



HAL
open science

Pollutions agricoles et diatomées benthiques : Caractérisation in situ des principaux impacts, prise en compte en bio-indication

Noémie Gardes

► **To cite this version:**

Noémie Gardes. Pollutions agricoles et diatomées benthiques : Caractérisation in situ des principaux impacts, prise en compte en bio-indication. Sciences de l'environnement. 2005. hal-03797290

HAL Id: hal-03797290

<https://hal.inrae.fr/hal-03797290>

Submitted on 4 Oct 2022

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.



Université Blaise Pascal

UFR Sciences Exactes et Naturelles

Pollutions agricoles et diatomées benthiques : Caractérisation *in situ* des principaux impacts, prise en compte en bio-indication

Présenté par Noémie Gardès

Maitre de stage : Michel COSTE, DR

Responsable de stage : François DELMAS, ICGREF

Département Gestion des Milieux aquatiques

Unité de recherche « Réseau, Épuration et
Qualité des Eaux »

50, avenue de Verdun
33612 CESTAS cedex

• Tel : (33) 5 57 89 08 00

Sept. 2005

Remerciements

Je tiens particulièrement à remercier l'ensemble des personnes qui ont contribué au bon déroulement de ce stage :

Mon maître de stage, Michel Coste, pour m'avoir laissée toute l'autonomie nécessaire pour la réalisation de ce stage, pour son travail et son soutien sans lequel il n'aurait pas abouti et sa bonne humeur qui a rendu ces 6 mois au Cemagref très agréables.

Timothée Debenest, pour m'avoir encadrée, soutenue et supportée tout au long du stage, pour ses multiples relectures du rapport et avec qui ce fut un plaisir de travailler.

François Delmas sans qui ce stage n'aurait pas eu lieu et pour son aide au cours des sorties terrains.

Daniel Poulain, Directeur de l'unité « Réseau, Epuration et Qualité des Eaux », pour m'avoir accueillie au sein de son équipe.

Henri Beuffe, pour ses enseignements qui m'ont énormément aidé et pour son soutien lors de la concrétisation de ce stage.

Mathieu Torre, pour sa bonne humeur et nos grandes discussions lors des sorties sur le terrain.

Alain Dutartre, pour sa convivialité et pour avoir agrémenté nos pauses par l'achat d'un appareil très utile.

Aude, Clément, Magdalena, Juliette, Aurélien, Corinne et David, pour les bons moments passés ensemble.

Toute l'équipe du laboratoire de chimie de l'unité « Réseau, Epuration et Qualité des Eaux » pour avoir réalisé nos analyses.

Table des matières

Résumé	
Table des illustrations	
Introduction.....	1
Partie A. Les diatomées et la bio-indication.....	2
<u>I. Les diatomées, compartiment biologique largement utilisé pour la bio-indication aquatique</u>	2
1. Caractères généraux des diatomées.....	2
a. Morphologie et cytologie.....	2
b. Systématique.....	3
c. Reproduction.....	4
d. Ecologie.....	4
2. Principales utilisations des diatomées.....	6
<u>II. Les diatomées et la bio-indication de la qualité des cours d'eau</u>	6
1. Intérêt des diatomées benthiques en bio-indication.....	6
2. L'indice Biologique Diatomées : intérêts et limites.....	7
<u>Partie B. Les pesticides et leur impact sur les communautés algales : état des connaissances</u>	8
<u>I. Présentation des herbicides inhibiteurs du photosystème II, leur mode d'action et leur transfert</u>	8
1. Présentation.....	8
a. Les urées substituées.....	8
b. Les triazines.....	8
2. Mode d'action.....	8
3. Transfert et transformation des résidus d'herbicides.....	9
<u>II. Effets des herbicides inhibiteurs du photosystème II sur les algues</u>	9
1. Effet au niveau de la cellule.....	9
a. Fluorescence algale.....	9
b. Modifications des pigments.....	9
c. Production photosynthétique.....	10
d. Libération de molécules organiques.....	10
e. Morphologie des cellules.....	10
2. Effet sur la croissance et la biomasse algale.....	10
<u>III. Conséquences des effets sur les communautés algales</u>	11
1. Sensibilité des espèces algales.....	11
2. Destructuration, sélection et résistance des communautés algales.....	11

3. Facteurs influençant les réactions des différentes espèces algales.....	12
a. Les paramètres physico-chimiques.....	12
b. Composition des peuplements et interactions interspécifiques.....	12
c. Importance des variabilités saisonnières, successions algales.....	13
Partie C : Le projet IMAQUE.....	14
<u>I. Présentation de l'étude et du projet IMAQUE.....</u>	14
1. Contexte général : une agriculture très évoluée et développée.....	14
2. Le projet IMAQUE et ses travaux.....	14
<u>II. Présentation de la zone d'étude : les Coteaux de Gascogne, une région fortement agricole.....</u>	15
1. Caractéristiques naturelles de la zone d'étude.....	15
a. Situation géographique et morphologique.....	15
b. Climat.....	16
c. Géologie et pédologie.....	16
d. Hydrogéologie.....	16
e. Des rivières artificiellement alimentées : le système Neste.....	17
2. L'agriculture : principale activité des Coteaux de Gascogne et source de pollutions des cours d'eau.....	18
a. Une organisation particulière.....	18
b. L'agriculture, source de pollution.....	18
3. Présentation des stations étudiées.....	19
a. Présentation des stations étudiées dans le projet IMAQUE.....	19
b. Les caractéristiques des continuums étudiés.....	20
<u>Partie D : Présentation du matériel et des méthodes utilisées.....</u>	21
<u>I. Démarche et déroulement de l'expérimentation <i>in situ</i>.....</u>	21
1. Protocole de terrain.....	21
2. Dispositif utilisé pour l'étude des populations de diatomées benthiques.....	21
3. Période et fréquence de prélèvement.....	21
<u>II. Protocole d'échantillonnage et méthodes utilisés.....</u>	22
1. Protocole d'échantillonnage.....	22
a. Protocole de prélèvement sur les substrats artificiels.....	22
b. Protocole de prélèvement sur substrats naturels.....	22
2. Etude du compartiment biologique : présentation des méthodes utilisées.....	22
a. Protocole de dosage de la chlorophylle <i>a</i>	23
b. Protocole de dosage des matières sèche sans cendre.....	23
c. Protocole de réalisation des lames permanentes de diatomées.....	23
d. Evaluation des densités de diatomées.....	24

3. Analyse chimique des prélèvements d'eau	24
a. Analyse des formes azotées et phosphorées	24
b. Dosage des herbicides	25
4. Disponibilité des données	25
5. Analyse des données	25
<u>Partie E : Présentation et analyse des résultats</u>	26
<u>I. Caractérisation abiotique des continuums</u>	26
1. Pluviométrie	26
2. Débit	26
3. Mesures des paramètres physico-chimiques	27
4. Evaluation de la contamination par les nitrates et les orthophosphates	28
5. Mesure des concentrations en pesticides	30
6. Confrontation des notes de l'IBD avec les résultats de pesticides	33
<u>II. Analyse des paramètres biologiques du biofilm</u>	34
1. Etude des paramètres liés à la colonisation des substrats artificiels	34
a. Résultats de chlorophylle <i>a</i>	34
b. Évolution des matières organiques au sein du biofilm	37
c. Evaluation des densités de diatomées sur les substrats artificiels	39
2. Etude des paramètres qualitatifs des diatomées benthiques	42
a. Résultats et étude du descripteur formes anormales	42
b. Etude de la diversité des populations de diatomées benthiques	44
<u>Partie F : Bilan et discussion</u>	46
<u>Conclusion</u>	48
<u>Bibliographie</u>	
<u>Annexes</u>	

Résumé

Pollutions agricoles et diatomées benthiques : caractérisation in situ des principaux impacts, prise en compte en bio-indication

Mots clés : Diatomées benthiques, Bio-indication, Indice Biologique Diatomique, Pesticides, Pollutions agricoles

Le compartiment des diatomées benthiques est largement utilisé en bio-indication pour évaluer la qualité des eaux. Les Agences de l'eau et le Cemagref ont mis au point un indice diatomique, applicable en routine à l'ensemble du territoire national : l'Indice Biologique Diatomique (IBD). Malgré la mise en évidence d'un grand nombre de pollution par cet indice, il s'est avéré, lors de campagne de test, qu'il ne révélait pas efficacement les pollutions dues aux toxiques (métaux et pesticides).

Dans le cadre d'un projet pluridisciplinaire (IMAQUE 2003) sur l'étude, d'une part, de la dynamique et des flux de polluants agricoles et, d'autre part, de leur impact sur les compartiments biologiques aquatiques, le Cemagref conduit actuellement un travail de recherche concernant l'impact des pesticides sur les diatomées benthiques. L'objectif est, à terme, d'améliorer la bio-indication par les diatomées benthiques, afin qu'elle permette la révélation des pollutions diffuses des pesticides agricoles.

L'enjeu de ce travail est d'identifier et de caractériser des descripteurs quantitatifs (chlorophylle a, matière organique et densité de diatomées) et qualitatifs (abondances des formes anormales, diversité) de l'impact des pesticides agricoles sur les diatomées benthiques.

Les résultats des paramètres quantitatifs ont permis de constater une perturbation de la colonisation des substrats artificiels parallèlement à l'intensification des pratiques agricoles. La totalité des données concernant les paramètres qualitatifs n'ayant pas été obtenue, très peu d'observations ont pu être faites. Les premières données concernant la diversité paraissent cependant prometteuses car une diminution de ce paramètre a été observé en parallèle avec le début des traitements. L'utilisation du critère d'abondance des formes anormales s'est révélé peu aisée du fait de la faible abondance des formes anormales au sein des populations et de la grande variabilité de ce paramètre.

Agricultural pollution and benthic diatoms: characterization in situ of the principal impacts, taken into account in bio-indication

Key-words: Benthic diatoms, Bio-indication, Diatomic Biological Index, agricultural Pesticides, Pollution

The compartment of the benthic diatoms is largely used to evaluate the quality of water. The french Water Agencies and the Cemagref developed a diatomic index, applicable in routine to the whole of the own territory: the Diatomic Biological Index (IBD). In spite of the description of a great number of pollution by this index, it proved, at the time of test campaign, which it did not reveal effectively pollution due to the poisons (metals and pesticides).

Within the framework of a multi-field project (IMAQUE 2003) on the study, on the one hand, of the dynamics and agricultural flows of pollutants and, on the other hand, their impact on the watery biological compartments, the CEMAGREF currently carries out a research task concerning the impact of the pesticides on the benthic diatoms. The objective is, in the long term, to improve the bio-indication by the benthic diatoms, so that it allows the revelation of diffuse pollution of the agricultural pesticides.

The stakes of this work is to identify and characterize quantitative descriptors (chlorophyll a, organic matter and density of diatoms) and qualitative (abundances of the abnormal forms, diversity) of the impact of the agricultural pesticides on the benthic diatoms.

The results of the quantitative parameters made it possible to parallel to note a disturbance of the colonization of the artificial substrates the intensification of husbandries. The totality of the data concerning the qualitative parameters not having been obtained, very few observations could be done. The first data concerning diversity appear however promising because a reduction in this parameter was observed in parallel with the beginning of the treatments. The use of the criterion of abundance of the abnormal forms appeared not very easy because of the low abundance of the abnormal forms within the populations and the great variability of this parameter.

Table des illustrations

Figure 1 : Exemple de colonies en chaînette (*Aulacoseira ambigua*), en ruban (*Fragilaria capucina*) et en étoile (*Asterionella formosa*)

Figure 2 : Structure du frustule d'une diatomée (*Navicula sp.*) (d'après Round et al. 1990, modifié par Gold, 2002)

Figure 3 : Exemple de diatomées centriques (*Cyclotella dubius*) et pennées (*Fragilaria capucina*)

Figure 4 : Schéma illustrant la réduction progressive de la taille des cellules au fil des multiplications végétatives chez les diatomées (d'après Prygiel and Coste 2000, modifié)

Figure 5 : Situation géographique de la zone d'étude sur la région Midi-Pyrénées

Figure 6 : Paysage vallonné des Coteaux de Gascogne

Figure 7 : Fonctionnement du système NESTE

Figure 8 : Représentation cartographique des stations étudiées

Figure 9 : Quelques photographies des cours d'eau : le Sousson à Dareous (en haut à gauche), la Save à Cazaux (en haut à droite) et le Touch à Fabas (en bas)

Figure 10 : Protocole de terrain

Figure 11 : Dispositif expérimental

Figure 12 : Protocole de prélèvements sur substrats artificiels

Figure 13 : Balayage de la lame selon la norme NF T90-354 AFNOR 2000

Figure 14 : Pluviométrie sur la zone d'étude de mars à juin 2005

Figure 15 : Mesure de débit sur le Touch pour l'année 2005

Figure 16 : Evolution des caractéristiques physico-chimiques du Sousson au cours de l'étude

Figure 17 : Evolution des concentrations en NO₃ le long du Sousson à chaque période de prélèvements

Figure 18: Evolution des concentrations en PO₄ le long du Sousson à chaque période de prélèvements

Figure 19: Evolution des concentrations en NO₃ le long de la Save à chaque période de prélèvement

Figure 20: Evolution des concentrations en NO₃ le long du Touch à chaque période de prélèvement

Figure 21 : Evolution des concentrations en herbicides le long du Sousson

Figure 22 : Evolution des concentrations en herbicides le long de la Save aux différentes périodes de prélèvement

Figure 23 : Evolution des concentrations en herbicides le long du Touch aux différentes périodes de prélèvement

Figure 24 : Evolution de l'IBD entre avril et début mai de l'amont vers l'aval du Sousson, de la Save et du Touch

Figure 25 : Evolution des teneurs en chlorophylle a le long de la Save à chaque date de prélèvement

Figure 26: Evolution des teneurs en chlorophylle a le long du Sousson aux dates de prélèvement

Figure 27 : Evolution des teneurs en chlorophylle a le long du Touch tout au long de l'étude

Figure 28 : Evolution des teneurs en chlorophylle a sur l'ensemble des stations

Figure 29 : Evolution des teneurs en matières organiques le long de la Save tout au long de l'étude

Figure 30 : Evolution des teneurs en matières organiques le long du Sousson au cours de l'expérimentation

Figure 31 : Evolution des teneurs matières organiques le long du Touch au cours du temps

Figure 32 : Evolution des matières organiques sur l'ensemble des stations

Figure 33 : Evolution des densités de diatomées sur le Sousson aux périodes de prélèvements

Figure 34 : Evolution des densités de diatomées sur le Save aux périodes de prélèvements

Figure 35 : Evolution des densités de diatomées sur le Touch aux périodes de prélèvements

Figure 36 : Evolution des densités de diatomées benthiques sur l'ensemble des stations

Figure 37 : Abondances relatives des formes anormales cumulées pour les substrats artificiels

Figure 38 : Abondances relatives des formes anormales cumulées pour les substrats naturels

Figure 39 : Répartition des formes anormales sur l'ensemble des stations au mois d'avril

Figure 40 : Répartition des formes anormales sur l'ensemble des stations début mai

Figure 41 : Evolution des diversités de Shannon entre avril et début mai sur le Sousson , la Save et le Touch

Figure 42 : Evolution de la diversité des populations de diatomées sur l'ensemble des stations

Tableau 1 : Caractéristiques principales de la Save, du Sousson et du Touch

Tableau 2 : Méthodes chimiques utilisées pour les dosages des formes azotées et phosphorées

Tableau 3 : Tableau récapitulatif des codes couleurs des classes de qualité d'après la grille SEQ-Eau

Introduction

La bio-indication est, de nos jours, très largement utilisée pour évaluer la qualité des milieux aquatiques. Un bioindicateur se définit comme tout organisme ou système biologique qui, du fait de ces particularités écologiques, constitue l'indice précoce de modifications biotiques ou abiotiques du milieu dans lequel il vit. Très tôt les algues et notamment des algues unicellulaires, les diatomées, se sont révélées très utiles pour déceler les pollutions des hydrosystèmes.

Dès 1974, de nombreux indices et méthodologies utilisant les diatomées benthiques, ont été mis au point afin de disposer d'outil permettant d'évaluer la qualité des eaux. Afin d'intégrer les diatomées dans le réseau de surveillance de la qualité des cours d'eau, les Agences de l'eau et le Cemagref ont mis au point un indice diatomique applicable en routine et à l'ensemble du territoire national : l'Indice Biologique Diatomées.

Largement utilisé au niveau français et européen, cet indice diatomique rend compte fidèlement du niveau de qualité global des milieux aquatiques et procure une indication fiable du degré d'altération provoqué par les pollutions organiques ou trophiques. Cependant il s'est avéré, lors de campagnes de test, qu'il ne permettait pas de révéler efficacement les pollutions dues aux métaux et au pesticides.

Dans le cadre d'un travail de thèse, le Cemagref a donc engagé un travail de recherche dans le but d'améliorer la bio-indication par les diatomées benthiques des pollutions diffuses par les pesticides agricoles.

L'enjeu est d'identifier et de sélectionner les descripteurs les plus pertinents pour, à terme, améliorer les indices faisant appel aux diatomées benthiques.

Ces travaux s'inscrivent plus généralement dans un projet pluridisciplinaire (IMAQUE 2003) sur l'étude, d'une part, de la dynamique et des flux de polluants agricoles et, d'autre part, de leur impact sur les compartiments biologiques aquatiques de la région, fortement agricole, des Coteaux de Gascogne.

Le travail effectué, au cours du stage, vient en appui à cette thèse. Son enjeu est d'identifier et de tester plusieurs paramètres à partir de l'étude des populations de diatomées benthiques récoltées sur le terrain, et de fournir des pistes d'étude pour la sélection des descripteurs les plus intéressants pour la poursuite du travail de thèse. Dans cette démarche, deux types de paramètres ont été étudiés : les paramètres quantitatifs (chlorophylle *a*, matière organique et densité de diatomées) et qualitatifs (observation taxonomique et comptage des diatomées, comptage des formes anormales, biodiversité...). Des analyses d'eau ont permis d'obtenir les concentrations en pesticides qui ont pu être confrontées aux données biologiques afin de mettre en évidence d'éventuelles relations.

Après une présentation des diatomées benthiques et de leur utilisation en bio-indication, nous évoquerons l'état des connaissances concernant l'impact de certains herbicides sur les algues. Ceci nous conduira à présenter le projet et la zone d'étude des Coteaux de Gascogne avant d'exposer le matériel et les différentes méthodes utilisées au cours de l'étude. Enfin après une analyse des résultats, nous discuterons de la portée du travail réalisé.

Partie A. Les diatomées et la bio-indication

I. Les diatomées, compartiment biologique largement utilisé pour la bio-indication aquatique

1. Caractères généraux des diatomées

Les diatomées, encore appelées Bacillariophycées, sont des algues brunes, microscopiques et unicellulaires, appartenant à l'embranchement des Chromophytes. Leur taille varie de quelques micromètres à plus de 500 μm pour les plus grandes.

Elles sont la plupart du temps solitaires mais certaines espèces peuvent constituer des colonies : en chaînette, en ruban ou en étoile.



Aulacoseira ambigua



Fragilaria capucina



Asterionella formosa

Figure 1 : Exemple de colonies en chaînette (*Aulacoseira ambigua*), en ruban (*Fragilaria capucina*) et en étoile (*Asterionella formosa*).

Ces algues jouent un rôle très important dans la production primaire. Dans le cas du phytoplancton marin qui produit 40% de la production primaire nette à l'échelle de la planète, les diatomées marines sont, à elles seules, à l'origine du quart de cette production (Werner 1977; Van Den Hoek, Mann et al. 1995).

A la base de la chaîne trophique (Stevenson and Pan 1999), les diatomées sont primordiales au bon fonctionnement des écosystèmes aquatiques. En effet, elles sont une source de nourriture importante pour le zooplancton, les larves de certains crustacés et les poissons (Perrein-Ettajani, Amiard et al. 1999).

a. Morphologie et cytologie

Les diatomées ont la particularité de posséder un squelette externe siliceux appelé le **frustule**. Il a l'aspect d'une boîte, composée de deux valves : l'épivalve (au dessus) s'imbriquant dans l'hypovalve, plus petite, reliées entre elles par des ceintures connectives (l'épicingulum et l'hypocingulum) composées d'un nombre variable de bandes intercalaires.

Le manteau et les bandes intercalaires forment la zone connective. L'ornementation des deux valves se caractérise par la présence de stries, côtes, cloisons, ponctuations, soies ou autres protubérances. Associées à la forme générale des individus, ces structures aident à la détermination des espèces.

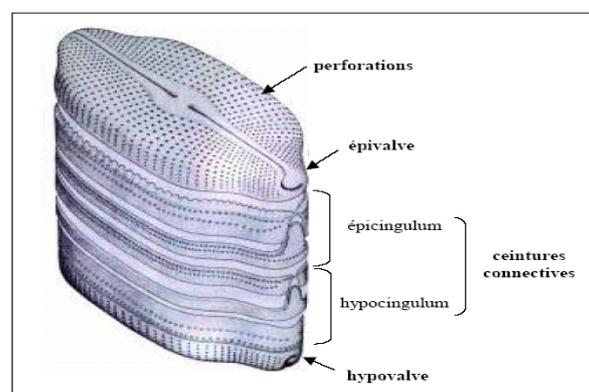


Figure 2 : Structure du frustule d'une diatomée (*Navicula sp.*) (d'après Round et al. 1990, modifié par Gold, 2002).

Chez de nombreuses diatomées à symétrie axiale (on parlera alors de diatomées pennées), la valve est parcourue, souvent en son milieu, par une fente étroite plus ou moins longue, le raphé¹, qui permet les échanges de la cellule avec le milieu extérieur.

Le raphé est utilisé comme élément de détermination. Certaines diatomées, que la systématique classe chez les biraphidées possèdent un raphé sur les deux valves, tandis que les monoraphidées ne possèdent qu'une seule valve pourvue d'un raphé atrophié appelé pseudo raphé, de même l'absence de raphé chez d'autres les classe dans les araphidées ou crypto-raphidées.

Le raphé est aussi impliqué dans la locomotion des diatomées (Bourrelly 1981; Van Den Hoek, Mann et al. 1995; Bertrand 1999), les diatomées sans raphé étant dans l'incapacité de se déplacer activement.

D'un point de vue cytologique, la cellule des diatomées ne diffère pas d'une cellule eucaryote algale. Le cytoplasme renferme les mêmes éléments : noyau, mitochondries, appareil de golgi, inclusions huileuses de substances de réserve (chrysolamine ou leucosine et matières grasses) et des plastes (qui contiennent les chlorophylle a et c ainsi qu'une importante quantité de pigments caroténoïdes) dont le nombre et la forme varient suivant le genre et l'espèce (Bourrelly 1981).

La cellule élabore de nombreuses substances mucilagineuses qui jouent un rôle important dans la constitution et la protection des colonies, la locomotion, la flottaison et la reproduction (Prygiel and Coste 2000). Ce mucilage est important lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables, notamment pour la protection et la survie des cellules comme des colonies.

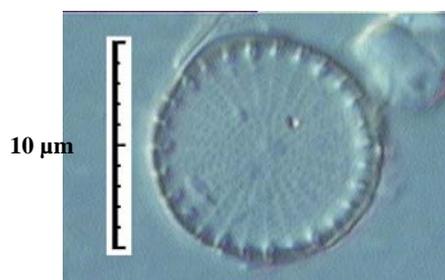
b. Systématique

Elle est principalement fondée sur la morphologie générale (forme, symétrie, taille) en vue valvaire (de face) ou connective (de profil) et sur l'ornementation des frustules.

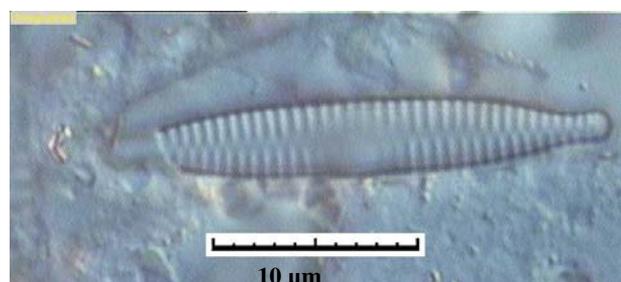
L'identification des espèces se réalise à l'aide d'un microscope photonique, à partir de l'étude des frustules, débarrassés de leur contenu organique, par digestion chimique.

Les classifications des diatomées sont nombreuses et ne cessent d'évoluer. Nous retiendrons au cours de ce travail celle élaborée par Krammer et Lange-Bertalot (Krammer and Lange-Bertalot 1986 - 1991) qui distingue deux ordres en fonction de leur symétrie :

- les **Centriques**, à symétrie radiale, ne possédant pas de raphé, rassemblant les espèces rondes et cylindriques,
- les **Pennées**, à symétrie bilatérale, possédant un raphé ou pseudo-raphé, regroupant les autres espèces.



Stephanodiscus hantzchii



Fragilaria var vaucheriae

¹ Le raphé est interrompu en son milieu par un épaississement siliceux, le nodule central et se termine aux deux extrémités par un nodule terminal

Figure 3 : Exemple de diatomées centriques (*Stephanodiscus hantzchii*) et pennées (*Fragilaria var vaucheriae*)

c. Reproduction

Deux modes de reproduction sont distingués chez les diatomées : la multiplication végétative et la reproduction sexuée.

- **la multiplication végétative** se fait par bipartition après mitose. Chaque cellule fille conserve une valve de la cellule mère et en secrète une deuxième à l'intérieur. La taille des cellules se réduit donc progressivement au cours des générations.

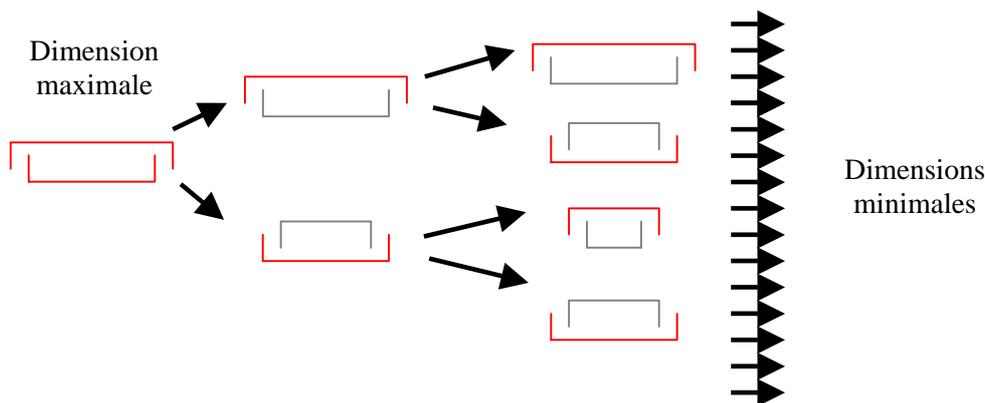


Figure 4 : Schéma illustrant la réduction progressive de la taille des cellules au fil des multiplications végétatives chez les diatomées (d'après Prygiel and Coste 2000, modifié).

- **la reproduction sexuée** intervient lorsque la taille minimale des valves est atteinte et lorsque les conditions environnementales sont correctes (Edlund and Stoemer 1997). Elle permet aux individus de retrouver une taille normale. Les modalités de cette reproduction sexuée varient selon les formes centriques ou pennées. La production d'auxospores est la forme la plus fréquemment observée. Si les conditions deviennent défavorables, les diatomées fabriquent alors des spores de résistance : les hyhnospores (Edlund and Stoemer 1997).

d. Ecologie

Du fait de leur faible besoin en lumière et en humidité, pour se développer, les diatomées occupent aussi bien les eaux (douces, salées et saumâtres, courantes et stagnantes...), l'air (aérosols) et les sols (sols humides, parois de cavernes...) (Round 1990).

Deux types d'espèces sont distinguées en milieu aquatique, selon leur mode de vie.

- **Les diatomées planctoniques**

Elles vivent libres, en suspension dans la colonne d'eau. Elles sont surtout représentées par des centriques isolées (*Cyclotiella*) ou associées en chaîne (*Aulacoseira*).

- **Les diatomées benthiques,**

Ces diatomées vivent fixées à la surface de substrats immergés à une profondeur correspondant à la zone photique (où la lumière est suffisante pour que les algues puissent assurer la photosynthèse). Le type de substrat colonisé détermine différentes communautés diatomiques souvent très différentes².

² On distingue : l'épipélon et l'endopélon, désignant les espèces vivants à la surface ou dans le sédiment ; l'épipsammon constitué d'espèces vivants à la surface des grains de sable ; l'épilithon qui rassemble celles qui vivent sur des substrats

Parmi les diatomées, seules les diatomées pennées possédant un raphé peuvent se déplacer (Bertrand 1999). Les diatomées planctoniques se déplacent passivement dans la colonne d'eau au grès des courants ce qui explique leur abondance en milieu lentique.

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer le mouvement des diatomées pennées. Van Den Hoek, dans son ouvrage intitulé « *Algae, an introduction to phycology*, » (Van Den Hoek 1995) émet deux théories : la première évoque un courant protoplasmique dans le milieu extracellulaire, au travers du raphé, qui par réaction induit le mouvement de la cellule; la seconde suggère que ce mécanisme de réaction résulte d'une sécrétion de substances mucilagineuses composées de polysaccharides, au travers du raphé.

Dans le milieu aquatique, le développement des diatomées est étroitement lié à la température, aux caractéristiques hydrauliques et physico-chimiques, et donc aux variations saisonnières du milieu. Chaque espèce possède des préférences vis à vis des paramètres environnementaux.

- **Température** : ce facteur n'est pas indépendant des autres facteurs environnementaux, un changement de température modifie à la fois l'oxygénation de l'eau, la viscosité, la solubilité et la diffusion des composants chimiques. Ce paramètre agit donc, plus ou moins indirectement sur le métabolisme des diatomées.
- **Vitesse du courant** : la distribution des diatomées en faciès lotique est directement liée à l'efficacité de leur mode de fixation au substrat. Dans les eaux calmes, les espèces limnophiles sont plutôt majoritaires alors que les espèces rhéophiles se rencontrent davantage dans les eaux courantes.
- **pH** : il est déterminant pour la distribution des peuplements de diatomées. En effet il influence la solubilité de certaines substances et la disponibilité du carbone. On distingue ainsi trois types d'espèces : acidophiles, neutrophiles et alcaliphiles.
- **Salinité** : seules les diatomées présentant un fort pouvoir osmoregulateur (diatomées euryhalines) sont présentes à la fois dans les eaux douces et les eaux saumâtres (*Craticula halophila*, *Fragilaria pulchella*). La distribution des diatomées ne supportant pas les fortes variations de salinité (diatomées sténohalines) est liée à la concentration en sel du milieu.
- **Matières organiques** : les espèces ayant des affinités différentes pour les matières organiques, des classes de tolérance aux charges organiques ont été mises en place. On distingue les espèces polysabrobes supportant la décomposition des matières organiques et une très faible oxygénation et les espèces oligosabrobes ne tolérant que les eaux pauvres en matières organiques.
- **Nutriments** : à partir d'une classification fondée sur la richesse en nutriments (azote et phosphore) on oppose les espèces hypereutrophes, abondantes dans les eaux riches en nutriments (*Cyclotella meneghiniana*) et les espèces oligotrophes des eaux pauvres en nutriments (*Diatoma mesodon*).
- **Teneurs en silice** : le besoin en silice varie en fonction des espèces mais également au sein d'une même espèce, selon son stade de développement. Certaines espèces faiblement silicifiées se développent normalement en présence de faible quantité de silice. D'autres plus fortement silicifiées nécessitent des concentrations plus importantes et peuvent présenter des formes anormales en cas de carence en silice.

durs et inertes ; l'épiphyton qui regroupe les espèces qui colonisent la surface des végétaux et le périphyton qui désigne au sens plus large toutes les espèces fixées sur les objets immergés ou déposés à leur périphérie immédiate.

2. Principales utilisations des diatomées

Le frustule ayant la capacité de se conserver très longtemps après la mort des algues, les fossiles sont largement utilisés en paléolimnologie, pour obtenir de nombreuses informations. Lors de carottage de sédiments, ces fossiles sont utilisés pour déterminer si les sédiments ont une origine marine ou pas. Les diatomées sont également employées pour montrer comment les caractéristiques des lacs ont changé pendant la période quaternaire, particulièrement par rapport à l'eutrophisation et l'acidification anthropogène. Elles permettent aussi de reconstituer les climats ou conditions passées dans les océans (Van Den Hoeck 1975).

Les diatomées sont également utilisées en médecine légale pour établir un diagnostic lors de noyade (Ludes, COSTE et al. 1995; Druart, Kofman et al. 1997).

Elles présentent aussi de nombreux intérêts pour certaines activités économiques telles que l'ostréiculture³ et l'industrie chimique⁴.

Enfin les diatomées benthiques, en tant que compartiment biologique intégrateur des conditions environnementales du milieu, sont largement utilisées pour la détermination de la qualité des eaux.

II. Les diatomées et la bio-indication de la qualité des cours d'eau

1. Intérêt des diatomées benthiques en bio-indication

De nombreux compartiments biologiques aquatiques comme les macroinvertébrés, les algues et plus particulièrement les diatomées sont utilisés pour évaluer la qualité des eaux (Coste, Bosca et al. 1991; Prygiel and Coste 1993; Prygiel and Coste 1995).

Les diatomées présentent un intérêt plus particulier du fait de certaines de leurs caractéristiques:

- Elles sont capables de se **développer dans la plupart des écosystèmes aquatiques**, où elles occupent une position clé à la base des chaînes alimentaires en tant que producteurs primaires, et ceci même en présence de pollution.
- Leur **mobilité restreinte**, lorsque le biofilm est en place, permet d'obtenir, à la différence des analyses physico-chimiques classiques, une mesure intégrée des variations dans le temps, même soudaines, de la qualité du milieu dans lequel elles se développent.
- Les **préférences écologiques** variées, de chaque espèce, vis-à-vis des facteurs environnementaux, permettent d'obtenir un grand nombre d'informations sur les caractéristiques de l'habitat dans lequel elles vivent. De plus, **leur cycle de développement très court** (quelques heures à quelques jours) leur attribue un temps de réponse rapide face aux variations du milieu.

De nombreux chercheurs se sont appuyés sur ces différentes caractéristiques pour réaliser plusieurs **indices biologiques**, fondés sur les communautés de diatomées benthiques (Prygiel and

³ La diatomée *Haslea ostrearia* produit un pigment bleu-vert responsable du verdissement des huîtres qui améliore leur couleur au yeux du consommateur et induit des qualités gustatives et organoleptiques.

⁴ Les diatomites que l'on extrait des gisements de Diatomées fossiles sont, sous le nom de Tripoli et de Kieselguhr (généralement sous forme de poudre jaune), utilisées industriellement comme abrasifs (car ils sont composés de silice), isolants, matières filtrantes et supports stabilisants pour certaines substances chimiques (herbicides, nitroglycérine).

Coste, 1995; Prygiel and Coste, 2000). L'histoire des indices diatomiques en France, et plus généralement en Europe, date des années 70 avec la création de la première méthode indicielle diatomique par Coste et Leynaud en 1974 (Prygiel and Coste 2000)

Aujourd'hui il existe plus d'une vingtaine de méthodes, qui se fondent sur les préférences écologiques des différentes espèces de diatomées. Il existe deux grands types d'indices :

- **Les indices spécifiques** qui permettent de révéler un type de pollution. Il existe trois principaux indices spécifiques : les méthodes de type saprobique qui traduisent l'enrichissement en matières organiques biodégradables du milieu (Lange-Bertalot 1979) ; les méthodes de type trophique qui concernent l'enrichissement en substances nutritives (azote et phosphore) (Kelly and Whitton 1995); les méthodes qui visent à exprimer l'acidification des eaux (Ter Braak and Van Dam 1989).
- **Les indices généralistes** qui évaluent la qualité générale des milieux et intègrent plusieurs informations. Deux principales méthodes sont utilisées : l'Indice de Polluo-Sensibilité (IPS) et l'Indice Biologique Diatomique (IBD) (Coste in Cemagref 1982; (Rumeau and Coste 1988; Lecointe, Coste et al. 1993; Lenoir and Coste 1995; Prygiel and Coste 1998). Ces derniers indices intègrent les informations concernant les matières organiques, les substances nutritives (chlorophylle et phosphates) ainsi que divers paramètres tels que les chlorures, la conductivité et le pH.

Bien que les diatomées soient reconnues comme étant très utiles pour la détermination de la qualité des milieux aquatiques, leur utilisation présente aussi un certain nombre d'inconvénients : l'identification des espèces nécessite des préparations et des comptages fastidieux, la possession d'un microscope de bonne qualité et la maîtrise de la systématique de ce groupe, qui requiert un long apprentissage.

2. L'indice Biologique Diatomées : intérêts et limites

Afin de disposer d'un outil simple, rapide et fiable, les Agences de l'Eau, en partenariat avec le Cemagref, sous la direction de Michel Coste de l'unité « Qualité des Eaux » du Cemagref de Bordeaux, ont développé en 1996, l'Indice Biologique Diatomique (IBD). Cet indice, à l'usage des gestionnaires et applicable à l'ensemble du réseau hydrographique français, permet d'évaluer la qualité générale de l'eau en routine en intégrant les paramètres physico-chimiques des eaux. Il a été normalisé en 2000 (AFNOR 2000) ainsi que les techniques d'échantillonnage, de préparations des lames et de comptage en 2003 (AFNOR 2003) dans le but d'optimiser son application.

Bien que les performances de l'IBD pour la détermination des pollutions de nature organique ou trophique, aient été démontrées, des insuffisances subsistent dans la révélation des pollutions toxiques dues aux métaux lourds et pesticides. Soucieux de remédier à cette situation, le Cemagref s'est engagé dans un travail de recherche, au travers de la thèse de Timothée Debenest et dans lequel s'inscrit ce stage. L'objectif de ce projet est de caractériser l'impact des pesticides agricoles sur les diatomées afin d'identifier des descripteurs pertinents pouvant être utilisés, à terme, pour révéler ce type de pollution.

Très peu de travaux concernant cette thématique ont été effectués auparavant. Nous allons donc procéder dans une seconde partie à un état des connaissances existantes concernant l'impact des pesticides agricoles sur les diatomées et plus généralement sur les communautés algales.

Partie B. Les pesticides et leur impact sur les communautés algales : état des connaissances

La bibliographie concernant l'évaluation des impacts des pesticides sur le compartiment des diatomées, se focalise essentiellement sur les herbicides et leur effet sur les communautés algales. La majorité des travaux engagés sur le sujet se limitent à des molécules herbicides très connues (familles des urées substituées et des triazines), dont le mécanisme d'action est de bloquer la photosynthèse en inhibant le photosystème II (PS II).

I. Présentation des herbicides inhibiteurs du photosystème II, leur mode d'action et leur transfert

1. Présentation

Au sein des herbicides, les inhibiteurs du photosystème II regroupent les urées substituées, les triazines, les triazinones symétriques ou asymétriques, les uraciles et les biscarbamates. Parmi ces herbicides, les urées substituées et les triazines sont les plus utilisées en agriculture (Ducret 1991).

a. Les urées substituées

Les herbicides les plus utilisés de cette famille sont le diuron, l'isoproturon et le chlortoluron (Munoz 1992). Ces herbicides de post levée agissent par pénétration foliaire mais aussi par voie racinaire. Leur solubilité est faible⁵.

b. Les triazines

Cette famille est constituée d'une quinzaine de composés repartis en quatre ensembles⁶ parmi lesquels une molécule très connue : l'atrazine. Leur absorption se fait essentiellement par voie racinaire pour un effet maximal lors de l'application en pré-levée. Cependant, l'absorption foliaire est non négligeable pour certains composés tels que l'atrazine, ou le prométryne. Leur solubilité dans l'eau varie de 3.5 à 1200 mg/L⁷.

2. Mode d'action

Les inhibiteurs du photosystème II empêchent le transfert des électrons dans les thylacoïdes, en agissant au niveau des plastoquinones. Ils agissent par compétition avec la plastoquinone pour un site d'affinité localisé dans une protéine appelée protéine B. La plastoquinone ainsi réduite, le transfert d'électron est alors bloqué. L'énergie lumineuse reçue par la chlorophylle n'est plus convertie en énergie électrochimique. Elle est dissipée sous forme de chaleur et de fluorescence (Ducret 1991).

L'inhibition du photosystème II entraîne dans un premier temps l'arrêt du dégagement d'oxygène et de la fixation de CO₂. Les chlorophylles excitées permettent la production d'oxygène singulet, forme très réactive normalement inactivée par les caroténoïdes. Lors du blocage du PS II, l'oxygène singulet reste actif et va entraîner la destruction oxydative des constituants des thylakoïdes,

⁵ La solubilité du diuron, par exemple, est de 42 mg/L à 25 °C et celle de l'isoproturon est de 70 mg/L à 22°C.

⁶ Les dérivés de la triazine symétriques constituent trois ensembles : les chloro-diamino-S-triazines (simazine, atrazine ou propazine), les méthoxy-diamino-S-triazines (simétone, atratone, terbuméton, prométone) et les méthylodiamino-S-triazines (prométryne, simétryne ou amétryne). Les dérivées de la triazine non symétrique, comme la métribuzine, constituent le dernier ensemble.

⁷ Par exemple la solubilité de l'atrazine est de 28 mg/L à 20°C et celle de la simazine est égale à 5mg/L à 20°C.

dont les pigments. De plus le transfert non cyclique d'électrons entraîne celui de la nitrite réductase, ce qui génère une accumulation de nitrites toxiques (Ducret 1991).

3. Transfert et transformation des résidus d'herbicides

Lorsqu'ils sont introduits dans le milieu naturel, les herbicides évoluent de manière incontrôlable. Une partie des produits appliqués est consommée par les plantes et les résidus sont soit dégradés soit dispersés.

Deux types de dégradations interviennent :

- **les biodégradations**, aérobies ou anaérobies, sous l'action d'une microflore,
- **les dégradations abiotiques** telles que la photodécomposition, les transformations chimiques ou les dégradations par les matières organiques ou par les argiles. La dégradation est donc sous l'influence de facteurs multiples, la composition physico-chimique, la température, l'humidité, la richesse de la microflore dont l'action et l'importance sont difficilement mesurables.

La dispersion et le blocage des résidus sont aussi complexes car liés à la nature physico-chimique des produits, à la nature et la morphologie des sols et au climat. Tous ces caractères conditionnent la dissolution, le transport à la surface et dans les sols, d'adsorption sur les colloïdes minéraux et les matières organiques du sol et la désorption.

La pollution diffuse conditionnée par de nombreux facteurs, reste donc difficilement évaluable et maîtrisable.

II. Effets des herbicides inhibiteurs du photosystème II sur les algues

Etant donné leur mode d'action, lorsqu'ils se retrouvent dans le milieu aquatique, ces herbicides sont susceptibles d'agir sur les algues et notamment sur le périphyton.

Dans le milieu naturel, ils sont en contact avec d'autres molécules, par conséquent les algues ne réagiront pas à une molécule isolée mais à un ensemble. Peu d'études concernent les possibles interactions entre les molécules et leurs conséquences sur les organismes aquatiques. Ce sont des phénomènes très difficile à mettre évidence (Bérard and Pelte 1999).

Les études portent la plupart du temps sur les effets d'une seule molécule telle que l'atrazine. Malgré son interdiction depuis 2003, elle a souvent été choisie pour des expérimentations, en raison de son importante utilisation passée dans les pratiques agricoles, des connaissances sur les techniques d'analyse et de sa forte rémanence dans le milieu naturel. D'autres herbicides ont été étudiés comme le diuron (Molander and Blanck 1992), le linuron (Van den Brink, Hartgers et al. 1997), la simétryne (Kasai and Hanazato 1995) ou la simazine (Goldsborough and Robinson 1986).

1. Effet au niveau de la cellule

a. Fluorescence algale

Les herbicides inhibiteurs du PS II, lorsque qu'ils sont introduits dans la cellule algale, provoquent une augmentation de la fluorescence induite par l'algue (Bérard, 1999). Depuis quelques années, plusieurs études ont été réalisées dans l'objectif de créer des biotests qui s'appuient sur ces mesures de fluorescence *in vivo* afin d'estimer l'état de contamination d'une eau polluée par les herbicides.

b. Modifications des pigments

Certaines études ont montré que lorsque les cellules se trouvaient en présence d'une importante quantité d'herbicide, les pigments diminuaient (Kasai and Hanazato 1995; Nyström 1997). Ceci

pourrait s'expliquer par le mode d'action de ces herbicides (chapitre I. 2) : l'absence d'inactivation de l'oxygène singulet entraîne des oxydations incontrôlées des constituants membranaires, en particulier des pigments (Bérard, 1999).

Mais à l'inverse, plusieurs auteurs ont constaté expérimentalement une augmentation significative des pigments chlorophylliens lors de contaminations par de faibles doses d'herbicides. Ce phénomène est probablement la conséquence d'un mécanisme d'homéostasie : les cellules végétales en situation de stress augmenteraient leurs antennes pigmentaires afin de maintenir une conversion efficace de l'énergie lumineuse en l'énergie chimique (Dahl and Blanck 1996).

Qualitativement, ces herbicides peuvent également changer les proportions de pigments intracellulaires comme par exemple, le ratio chlorophylle a/b (El-Dib, Shehata et al. 1989) dans des cellules de Chlorophycées.

c. Production photosynthétique

La production primaire chute en présence des herbicides inhibiteurs de la photosynthèse. Par exemple, en systèmes expérimentaux complexes (contenant plusieurs espèces algales), Hoffman et al. (Hoffman, Bills et al. 1982) ont observé cette diminution avec 0.5µg/L de simazine, Kasai et Hanazato (Kasai et Hanazato 1995) avec 100 mg/L de simétrine, De Noyelles et al. (De Noyelles, Dean Kettle et al. 1982) avec 20 µg/L d'atrazine.

La production primaire algale permettant la production d'oxygène dissous, la concentration en O₂ dans le milieu va chuter. Parallèlement, l'activité respiratoire nocturne augmente Certains travaux montrent des chutes en oxygène croissantes associées à des pressions de contamination de plus en plus importantes⁸ (Jüttner, Peither et al. 1995).

d. Libération de molécules organiques

La présence d'un herbicide peut modifier la libération de certaines substances chez les algues. Bester et al. (Bester, Huhnerfuss et al. 1995) ont constaté une corrélation entre la dose d'atrazine et le taux d'excrétion d'azote, de phosphore organique et d'acides aminées par les algues.

e. Morphologie des cellules

Plusieurs travaux ont permis de mettre en évidence des changements dans la morphologie des cellules au contact des herbicides. Van der Brink et al. (Van den Brink, Hartgers et al. 1997) ont constaté une diminution de la taille cellulaire de la diatomée *Cocconeis sp.* à la suite de l'introduction de linuron dans un microcosme. D'autres auteurs ont également montré ce phénomène sur les cellules de cyanobactéries et de chlorophycées.

2. Effet sur la croissance et la biomasse algale

Les observations, concernant l'effet des herbicides inhibiteurs de la photosynthèse sur la biomasse, sont variables selon les études. Pour certains auteurs, ils provoquent une diminution de la biomasse algale tandis que, pour d'autres, ils l'augmentent.

Dans le cadre d'études portant sur la sensibilité d'une seule espèce à un herbicide, les auteurs montrent une diminution du taux de croissance des algues (Stratton 1984; Peterson, Boutin et al. 1994).

Certains travaux mettent également en évidence une diminution de la biomasse algale globale des peuplements algaux complexes en présence d'herbicides (Goldsborough and Robinson 1986; De Noyelles, Dean Kettle et al. 1992; Hoagland, Drenner et al. 1993). Une étude réalisée par Hatekeyama

⁸ Simultanément à ces chutes d'o₂ ils constatent également des variations de valeurs de pH et de conductivité.

et al. (Hatakeyama, S. et al. 1994) sur une rivière, montre une baisse du taux de croissance du périphyton sur substrat naturel en relation avec une augmentation de la concentration en herbicides mesurée dans le milieu.

Une augmentation de la biomasse algale en présence d'herbicide, a également été observée, au cours de certaines études (De Noyelles, Dean Kettle et al. 1982; Pelte 1995). Ce phénomène a plutôt été observé dans le cas d'exposition des algues à de faibles doses de contaminant ou lors de doses élevées après une longue exposition. Les auteurs expliquent cette augmentation de la biomasse algale, par le développement plus ou moins important d'une ou plusieurs espèces algales tolérantes à l'herbicide au dépend des espèces les plus sensibles (Bérard et al. 1999). Il est donc possible que ces herbicides perturbent la structure des communautés algales.

III. Conséquences des effets sur les communautés algales

Les perturbations de la structure des communautés algales en présence d'herbicides inhibiteurs du PS II sont liées aux différences de sensibilité aux toxiques de chaque espèce d'algues qui composent les peuplements (Bérard, 1999). Les interactions entre les espèces vont donc être modifiées.

1. Sensibilité des espèces algales

Qu'il s'agisse de l'étude d'une espèce seule ou d'une communauté plus complexe, il reste très difficile d'évaluer la sensibilité des algues aux herbicides inhibiteurs du PS II. En effet elle varie énormément selon l'herbicide auquel est exposée l'algue, l'espèce, et les conditions expérimentales (Kasai et al. 1993; Bérard 1999). De plus, Bérard (1999) a montré que la sensibilité des familles taxonomiques pouvait être différente suivant les études pour un même produit et à des doses de contaminant voisines. Ceci est dû au fait qu'au sein d'une même famille d'algues les différentes espèces réagissent parfois de manière opposée aux herbicides.

Mais les algues réagissent également différemment en fonction des conditions du milieu, de la composition initiale du peuplement et des interactions entre chaque organisme. Ainsi une espèce, sensible aux herbicides en culture seule, pourra être inhibée au sein d'un peuplement ou ne pas réagir au sein d'une autre peuplement (Bérard et al. 1999).

Cependant il existe certains comportements communs aux algues en présence de ces herbicides. Ainsi les Chlorophycées semblent généralement inhibées par ces toxiques (Berard and Pelte 1996), les Dinophycées se montrent sensibles à de forte doses d'atrazine (Bérard, 1999) ; les Cryptophycées ainsi que les Diatomées pennées sont plus résistantes (Bérard et Pelte 1996; De Noyelles et al. 1982; Hoogland et al. 1993).

La capacité qu'ont certaines algues microscopiques à supporter la présence d'un herbicide inhibiteur de la photosynthèse provient de différents phénomènes. En ce qui concerne les diatomées, elles présentent certainement une tolérance à ces herbicides du fait de leur capacité à supporter de faibles conditions de lumière (Guasch and Sabater 1998).

2. Déstructuration, sélection et résistance des communautés algales

Les conséquences de la déstructuration des communautés algales sont la sélection des espèces et l'acquisition de résistances. Une communauté algale présente donc différents organismes ayant une sensibilité variable vis à vis de l'herbicide étudié. Ainsi les organismes les plus résistants subsistent et remplacent les plus sensibles. La communauté algale est déstructurée sous la pression de sélection liée à l'exposition à un toxique. Par conséquent, elle devrait présenter une résistance au toxique plus grande qu'une communauté n'ayant jamais été exposée et donc n'ayant pas connu cette pression de sélection. Cette hypothèse se confirme par certains travaux tel que ceux de Stay et al. (Stay, Katko et al. 1989) qui ont travaillé en microcosme sur des communautés phytoplanctoniques contaminées par

de l'atrazine. Leurs résultats montrent que la communauté la moins sensible est celle qui provient d'un plan d'eau dont le bassin versant est fortement agricole.

Un outil écotoxicologique, appelé le PICT (Pollution Induced Community Tolerance) s'appuyant sur ces hypothèses de déstructuration des communautés algales contaminées et leurs conséquences (sélection et résistance induite), a été mis en place par Blanck et al. en 1988.

Cet outil permet de définir le type de sensibilité des communautés biologiques à un toxique, en fonction de leur milieu d'origine. Il s'appuie sur le fait que les communautés les plus sensibles proviennent des milieux les moins contaminés et réciproquement.

Selon les contaminants auxquels ces communautés résistent, cet outil permet de définir le type de pollution auquel le site a été soumis.

Le PICT a été appliqué sur des communautés algales, principalement en système expérimentaux où le milieu était artificiellement contaminé par des herbicides inhibiteurs du PS II (Molander and Blanck 1992; Dahl and Blanck 1996).

Cette méthode pose encore d'importants problèmes techniques dans le choix d'un test global permettant de détecter la résistance des communautés et dans le choix de toxiques judicieux à étudier (Bérard, 1999). En outre, il nécessite l'utilisation de dispositifs expérimentaux relativement lourds à mettre en œuvre pour un suivi en routine de la qualité des eaux dans le cadre d'un réseau de surveillance.

3. Facteurs influençant les réactions des différentes espèces algales

a. Les paramètres physico-chimiques

La lumière et la température joueraient un rôle fondamental sur la sensibilité des algues aux triazines (Bérard, 1999). Atkins et Tchan (Atkins and Tchan 1967), par exemple, ont obtenu une augmentation de la sensibilité de leurs algues à l'atrazine en faisant varier la quantité de lumière à laquelle les cultures étaient soumises.

Le rôle de la lumière s'expliquerait probablement par les actions physiologiques directes que ces molécules peuvent avoir sur les cellules algales et par des phénomènes de résistance qui en découlent.

Quant à la température, Lampert et al. (Lampert, Fleckner et al. 1989) qui ont réalisé des expériences en enceintes *in situ* à deux périodes de l'année (température fraîche et température plus élevées), ont montré que les communautés algales cultivées dans des conditions de température plus fraîche réagissaient plus fortement à l'atrazine.

Certaines études ont également montré l'influence des nutriments sur la réponse des algues exposées à ces herbicides (Larsen et al. 1986 in Bérard 1999).

Ces phénomènes sont très complexes car si les paramètres physico-chimiques influent sur l'intensité de l'effet d'un herbicide sur les algues, à l'inverse les herbicides, eux même, peuvent, par l'intermédiaire des algues agir sur ces paramètres : diminution du pH et de l'oxygène dissous (Kasai and Hanazato 1995), augmentation des concentrations en nutriments (Kasai and Hanazato 1995).

b. Composition des peuplements et interactions interspécifiques

L'impact des herbicides inhibiteurs de la photosynthèse dépend de la composition initiale des peuplements phytoplanctoniques contaminés et du stade dans le cycle de chaque algue qui dépendent eux mêmes des saisons (Berard 1996).

Les interactions interspécifiques pourraient également influencer la réponse des communautés phytoplanctoniques. En effet même certaines espèces sensibles aux toxiques en culture simple, peuvent

profiter de la sensibilité plus importante d'autres espèces pour se développer (Berard 1996). Une sélection se produit alors, et la réaction au toxique de chaque espèce est modifiée.

c. Importance des variabilités saisonnières, successions algales

Selon la théorie des successions écologiques, les écosystèmes évoluent spontanément, suivant des modalités précises, dans le sens d'une complexification croissante de leur organisation. Les successions phytoplanctoniques se font sur une année et suivent les saisons (Amblard 1987 in Bérard, 1999). Les herbicides inhibiteurs du PS II pouvant modifier la structure des communautés phytoplanctoniques, les successions sont alors perturbées. Par ailleurs nous avons vu que ces herbicides pouvaient agir indirectement sur les paramètres physico-chimiques, qui, eux même influencent les successions. Il est donc possible que le déclin ou le développement d'une espèce suite à une pollution du milieu ne soit pas le résultat direct de l'action du produit sur l'algue mais plutôt les conséquences d'une modification de la structure de la communauté algale (De Noyelles, Dean Kettle et al. 1982) et de son environnement.

L'exposition permanente à un toxique (tel un herbicide) maintiendrait la communauté touchée à un stade successional juvénile ou pionnier, où seulement quelques espèces opportunistes à faible longévité et peu résistantes aux toxiques pourraient survivre.

Le facteur temps est très important. Il est nécessaire de prendre en considération la durée de mise en place des communautés algales et celle des rythmes de pollutions des milieux aquatiques. Jüttner et al. (1995) expliquent que la mise en évidence expérimentale de l'impact du polluant sur une communauté, dépend de la correspondance entre la durée de l'expérimentation (associée à la durée d'exposition) et le rythme des successions naturelles de cette communauté.

L'ensemble des travaux effectués montre que les herbicides inhibiteurs du PS II perturbent les peuplements phytoplanctoniques et ceci de façon plus ou moins marquée. Leur action sur les communautés algales est fortement dépendante d'un grand nombre de facteurs ce qui rend leur étude très délicate. Très peu de travaux ont été réalisés de nos jours et quasiment aucune étude n'a été faite sur le compartiment des diatomées isolé.

Dans une troisième partie, l'étude réalisée au cours du stage, ainsi que le projet dans laquelle elle s'insère, seront exposés. La zone d'étude du projet sera également présentée.

Partie C : Le projet IMAQUE

I. Présentation de l'étude et du projet IMAQUE

1. Contexte général : une agriculture très évoluée et développée

Depuis plus d'un demi siècle, le monde agricole a connu une profonde mutation. Le cas des grandes cultures en est un exemple. L'intensification des pratiques (utilisation d'intrants exogènes : fertilisants, produits phytosanitaires), la mécanisation, l'aménagement du territoire (rationalisation des parcelles, mise en place d'infrastructures de maîtrise de l'eau), qui ont contribué à l'augmentation continue des rendements, sont les signes de cette évolution.

Au cours de cette période, l'utilisation de produits phytosanitaires s'est sensiblement accrue. La gamme des produits utilisés est passée des organo-minéraux d'après guerre à une panoplie actuelle beaucoup plus vaste, en majorité composée de matières actives organiques de synthèse.

Si la hausse des rendements présente un point positif concernant l'économie agricole, cette tendance a plusieurs conséquences dommageables pour les écosystèmes aquatiques. La circulation de l'eau ainsi que la qualité des ressources en eau, qu'elles soient de surface ou souterraines, sont fortement altérées.

Ce constat a été largement illustré par les résultats obtenus depuis le milieu des années 90, par les réseaux institutionnels de surveillance des eaux superficielles (DIRENs, Agences de l'Eau, collectivités territoriales) et des aquifères (DRASS, DDASS) qui ont permis de confirmer les tendances observées. Le dernier rapport de l'Institut Français de l'Environnement (IFEN) met l'accent sur la dégradation quasi-générale de la qualité de l'eau sur le territoire français et témoignent de l'accroissement des pollutions par les nitrates et de l'augmentation de la présence de pesticides dans 90 % des points de surveillance en eaux de surface et 58 % des points de surveillance en eaux souterraines.

Au vu des efforts consentis par les autres sources potentielles de pollution pour réduire voire éliminer leur rejets, l'agriculture est aujourd'hui identifiée comme la principale activité responsable de la dégradation de la ressource en eau.

A l'échelle européenne, le même constat est fait même si des situations contrastées apparaissent selon les contextes sociaux et les types de pressions s'exerçant sur les milieux aquatiques. Pour pallier à cela, la Directive Cadre sur l'Eau (DCE 2000/06) a été votée par le Parlement Européen avec pour objectif la reconquête de la qualité des ressources hydriques. Elle préconise, après une diagnose d'état initial des hydrosystèmes, l'amélioration de leur situation écologique afin d'atteindre un bon état en 2015. Différents maillons biologiques-clés aux capacités bio-intégratrices reconnues, parmi lesquelles les diatomées benthiques, ont été retenues pour réaliser ce diagnostic.

2. Le projet IMAQUE et ses travaux

Au sens de la directive cadre sur l'Eau, le projet de recherche IMAQUE (« Impact des pollutions agricoles et rôles des dispositifs Agri-environnementaux sur la QUALité des EAUX, et des milieux aquatiques ») a été mise en place en 2003. S'appuyant sur une fédération d'équipes et de moyens scientifiques coordonnés par le GIS ECOBAG (Groupement Inter Scientifique ECOlogie du Bassin Adour-Garonne), il regroupe une quinzaine de laboratoires autour de la mise en évidence et de l'estimation des impacts des activités agricoles sur les transferts de matière et sur l'état écologique des cours d'eau.

Trois axes de recherche complémentaires ont ainsi été engagés : le premier vise à comprendre et à décrire la dynamique abiotique des hydrosystèmes, le second, dans lequel s'inscrit ce stage, se focalise sur le compartiment biologique et enfin le dernier s'intéresse à l'aspect sociologique du projet.

L'objectif de l'opération de recherche 2 est d'évaluer les effets de l'activité agricole sur le fonctionnement ou sur certaines caractéristiques du compartiment biologique aquatique des rivières. A cet effet trois compartiments biologiques, ayant antérieurement prouvés leur efficacité pour la bio-indication, sont étudiés : les diatomées benthiques⁹, les poissons¹⁰ et les invertébrés benthiques¹¹.

Ces travaux doivent permettre la mise au point de méthodologies ayant pour objectif d'améliorer les méthodes indiciaires existantes, utilisant des compartiments biologiques, afin d'intégrer les pollutions diffuses dues aux pesticides. A terme, ils devront permettre de proposer des outils pouvant être utilisés en appui à la surveillance et à la gestion des milieux.

Le Cemagref, dans le cadre du projet et de l'opération de recherche 2, étudie le compartiment des diatomées benthiques. Ce travail est effectué dans le cadre de la thèse de Timothée Debenest dont l'objectif est de caractériser et de modéliser l'impact des pollutions agricoles sur les populations de diatomées benthiques. Le stage de Master 2 intervient en appui à ces travaux. Il consiste à participer à une première approche d'évaluation de l'aptitude de ce maillon à révéler les effets des pesticides *in situ*. L'objectif principal est d'étudier et de caractériser les impacts des pollutions agricoles (trophique et toxiques) sur les communautés de diatomées benthiques, sur le terrain. L'intérêt de l'étude est d'être en mesure de distinguer plus particulièrement l'impact des pollutions agricoles toxiques, dues aux pesticides, de ceux, plus connus des pollutions trophiques.

La zone d'étude considérée par le projet IMAQUE est celle des Coteaux de Gascogne, région fortement agricole que nous allons présenter dans la partie suivante.

II. Présentation de la zone d'étude : les Coteaux de Gascogne, une région fortement agricole.

1. Caractéristiques naturelles de la zone d'étude

a. Situation géographique et morphologique

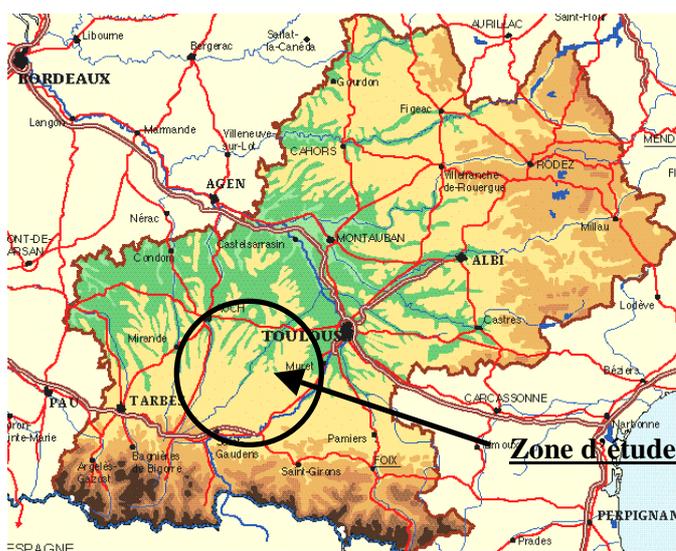


Figure 5 : Situation géographique de la zone d'étude sur la région Midi-Pyrénées

⁹ L'étude des diatomées est effectuée par l'unité « Réseau, Epuración et Qualité des Eaux » du Cemagref de Bordeaux

¹⁰ L'étude des poissons est effectuée à L'ENSAT au sein du laboratoire Agronomie, Environnement et Ecotoxicologie

¹¹ Le compartiment des invertébrés benthiques est étudié par le laboratoire LADYBIO, Toulouse 3

La zone d'étude se situe au sein des Coteaux de Gascogne, dans la région Midi Pyrénées, à cheval sur les départements du Gers, de la Haute Garonne, des Hautes-pyrénées et de l'Ariège. Elle fait partie du bassin versant de la Garonne où l'évolution des pratiques agricoles a été marquée, notamment dans les domaines des grandes cultures (culture irriguée du maïs).

Le paysage est très vallonné. Les vallées gasconnes sont généralement dissymétriques, les pentes sont fortes sur les versants situés à l'Est et faibles à moyennes pour les versants à l'Ouest. Sur les pentes fortes, bois et forêts dominent. Dès que la pente s'atténue, des zones agricoles prédominent largement les prairies, relativement peu nombreuses. L'habitat est très dispersé.



Figure 6 : Paysage vallonné des Coteaux de Gascogne

b. Climat

La zone d'étude est soumise à des conditions climatiques relativement instables, d'influence océanique et méditerranéenne. Le climat est doux en hiver, chaud et sec en été.

Les précipitations sont relativement homogènes. Les hauteurs moyennes annuelles sont comprises entre 700 et 800 mm.

c. Géologie et pédologie

Les marnes et les molasses, datant du miocène, sont très représentées. Mais les formations dominantes sont celles des colluvions limoneuses et des alluvions des terrasses, datant du quaternaire.

Selon la roche mère, trois principaux types de sol peuvent être distingués :

- **Les sols lessivés sur limon**, appelés **boulbènes** sont les plus présents. Ce sont des sols caractéristiques du Sud-Ouest de la France, caractérisés par une teneur élevée en limon d'où une mauvaise structure et une faible perméabilité des sols.
- **Les sols évolués des molasses**, imperméables et à très faible macro-porosité.
- **Les sols plus jeunes** : ce sont les sols des plaines inondables, sols bruns en général, et les sols des pentes, où l'érosion laisse à nu la molasse en place, souvent délitée et ameublie par une décalcification. Ces sols sont également appelés **sols de « terre fort »**.

d. Hydrogéologie

Les alluvions récents des principales rivières, renferment de petites nappes aquifères qui, compte tenu de l'extension de ces dépôts, ont une très faible productivité. La molasse et les boulbènes,

qui occupent la majeure partie de la zone étudiée, sont imperméables, favorisant ainsi le ruissellement des eaux au détriment de l'infiltration. Les réserves d'eau à faible profondeur sont, par conséquent, très faibles.

e. Des rivières artificiellement alimentées : le système Neste

Les rivières gascognes prennent leur source, pour la plupart, sur le plateau de Lannemezan, situé à quelques dizaines de kilomètres au sud du département du Gers. Elles ne bénéficient pas de la ressource pyrénéenne et trouvent leur bassin d'alimentation entièrement en plaine. Elles sont majoritairement orientées sud-nord, drainant des bassins très effilés. Malgré leurs nombreux affluents, leurs débits restent limités.

Reflète du climat relativement sec, elles disposent d'un débit spécifique faible (de 3,8 à 13 l/s/km²) et d'un régime très contrasté dénotant une pluviométrie d'influence méditerranéenne de leur bassin d'alimentation. Les rivières se caractérisent par les hautes eaux en hiver tandis que les étiages apparaissent dès le début de l'été et peuvent être longs et intenses. Du fait de l'imperméabilité des sols de molasse qui favorise le ruissellement, et de la faiblesse des nappes alluviales qui ne peuvent jouer un rôle tampon, les épisodes pluvieux hivernaux et les orages printaniers et estivaux peuvent se traduire par des crues brutales et dévastatrices.

Au XIX^{ème} siècle, une partie des eaux de la Neste (ruisseau de montagne et affluent de la Garonne) a été détournée pour alimenter artificiellement les cours d'eau gascons. Ainsi, entre 1848 et 1862, fut construit le Canal de la Neste d'une longueur de 28 km pour acheminer l'eau de manière gravitaire (grâce à une faible pente) de Sarrancolin, lieu de prise du canal, jusqu'au plateau de Lannemezan où la plupart des cours d'eau gascons prennent leur source.

Afin de répondre au développement des activités humaines et aux besoins d'alimentation en eau potable, la capacité du canal de la Neste a été portée de 7 à 14 m³/s vers 1950. Des réservoirs de Haute montagne (48 Mm³ au total), stockant les eaux de printemps pour la période estivale, ont alors été mis en service.

La Compagnie d'Aménagement des Coteaux de Gascogne (CACG), créée en 1960, devient la principale gestionnaire de ce réseau d'alimentation d'eau que l'on appelle désormais le système Neste. Les besoins allant toujours croissants, les décennies suivantes ont vu la construction de nouveaux réservoirs situés, eux, en tête de rivière portant l'ensemble des réserves à 100 Mm³.

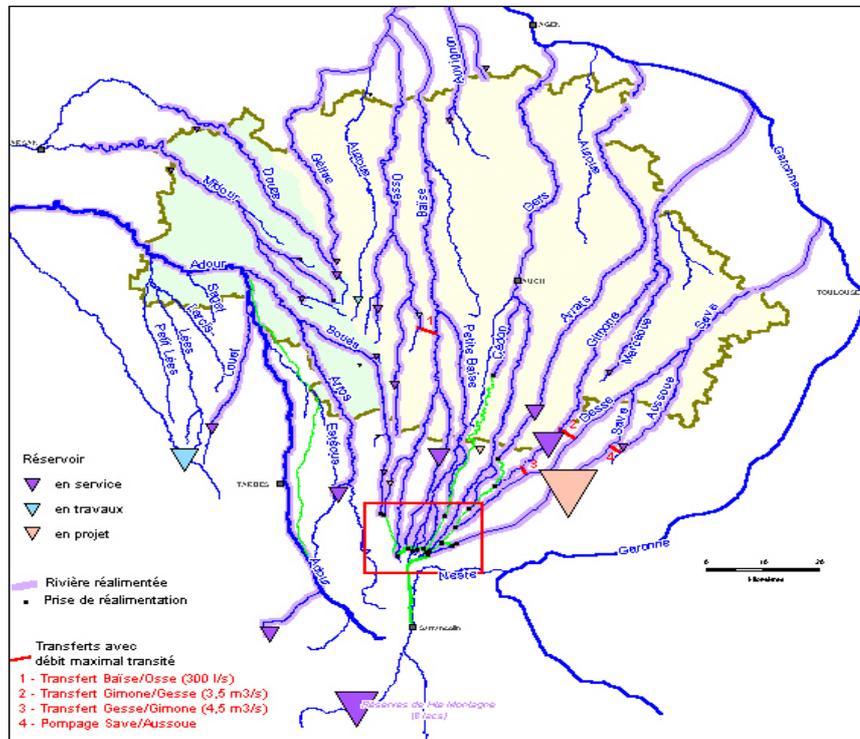


Figure 7 : Fonctionnement du système Neste

(www.gers.pref.gouv.fr)

Le canal et les réserves doivent assurer :

- ❖ La salubrité des rivières, en maintenant un débit minimum permettant la vie halieutique ainsi que la dilution des rejets polluants et l'alimentation en eau potable par des réseaux d'adduction prélevant dans des rivières réalimentées.
- ❖ La desserte en eau de plusieurs industries.
- ❖ La fourniture d'eau d'irrigation pendant l'été
- ❖ L'aide au remplissage des retenues de vallées pendant l'hiver et le printemps.

2. L'agriculture : principale activité des Coteaux de Gascogne et source de pollutions des cours d'eau

a. Une organisation particulière

L'agriculture constitue la première activité économique. Les cultures prédominantes sont celles du maïs, des céréales à paille et du tournesol. Plus restreintes, on trouve également des cultures de soja, des vergers et très localement des vignes.

L'agriculture, très développée, nécessite des prélèvements d'eau très importants pour l'irrigation des cultures. Or dans cette région les étés sont secs et la structure des sols et du sous-sol ne permettent pas de disposer de réserves d'eau naturelles immédiatement accessibles. Face à cette situation, La Compagnie d'Aménagement des Coteaux de Gascogne (CACG), a pour mission de gérer l'eau. Dans cet objectif elle doit assurer la meilleure adéquation possible entre ressources disponibles et demandes en eau. Concernant les usages agricoles, elle participe à l'attribution de droits de pompage et à la mise en place de réseaux d'irrigation.

b. L'agriculture, source de pollution

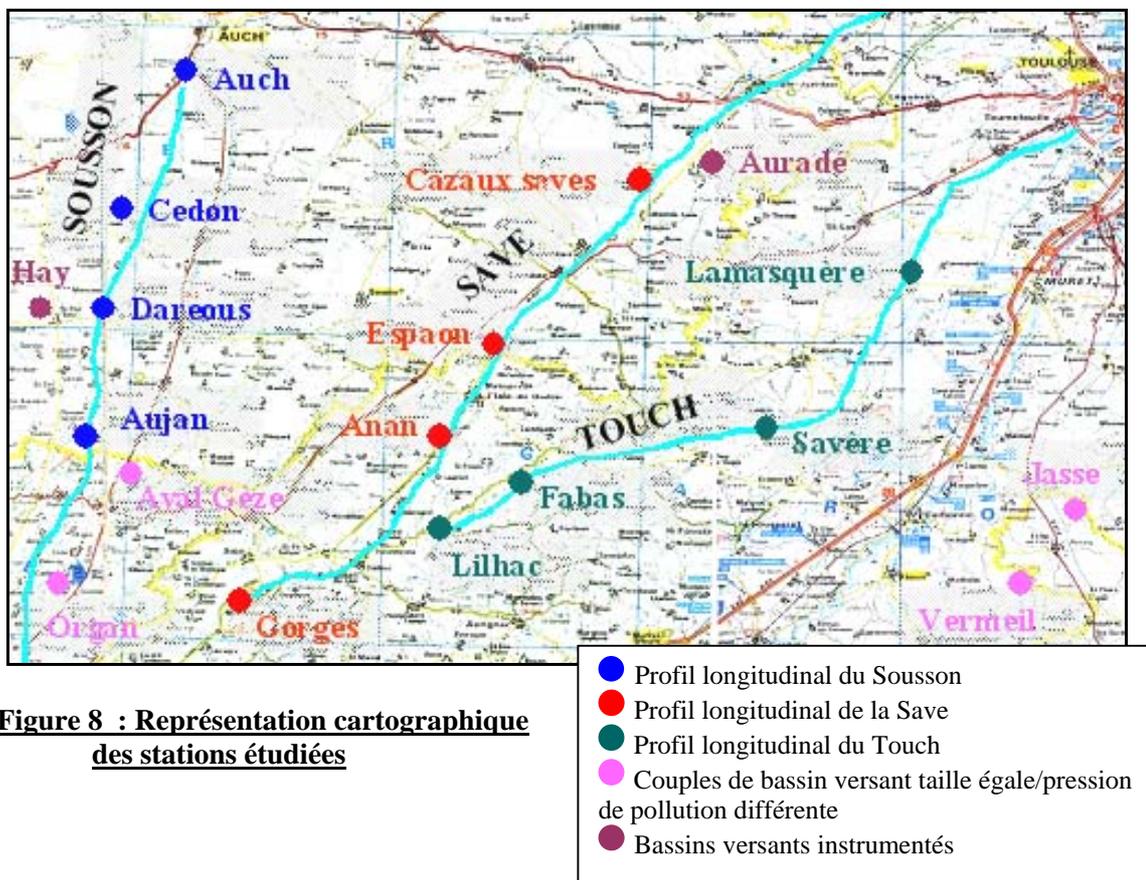
Le département du Gers est considéré comme un des premiers départements agricoles concernés par les pollutions d'origine agricole. Le suivi de la qualité des cours d'eau montre des teneurs en nitrates en augmentation sensible, ainsi que des pics de pollution par les produits phytosanitaires de plus en plus fréquents et intenses pendant les périodes printanières et estivales. Au sein de la région Midi-Pyrénées, les ressources hydriques gersoises sont les moins conformes en ce qui concerne leurs teneurs en pesticides. Lorsque les périodes de traitement intensive des cultures sont conjuguées à des épisodes de pluies intenses, de grandes quantités de pesticides sont, alors, entraînées par ruissellement dans les cours d'eau. La concentration en pesticides peut alors dépasser largement les seuils autorisés.

Les caractéristiques naturelles et pédologiques de la zone d'étude favorisent cette situation. Du fait de la présence de substrats molassiques, de sols à faible macro-porosité et de reliefs collinaires à fortes pentes, les écoulements de surface rapides sont prépondérants. Les transferts de matières (matières en suspension, matière organique, fertilisant minéraux et pesticides) depuis les parcelles vers les hydrosystèmes sont donc très importants sur des périodes relativement courtes. Cette situation est aggravée par l'évolution des pratiques agricoles (drainage, irrigation) et les modifications du parcellaire (élimination des haies et des zones enherbées, canalisation des cours d'eau). Les cours d'eau sont ainsi soumis à de forts apports terrigènes (argile, limons) ainsi qu'à des flux importants de pesticides et fertilisants agricoles. Enfin, du fait de la rareté des zones tampons comme les forêts ou les zones humides, les étiages sont marqués.

3. Présentation des stations étudiées

a. **Présentation des stations étudiées dans le projet IMAQUE**

Dix huit stations sont étudiées. Elles sont identiques pour les différents laboratoires intervenant sur le projet.



Les stations ont été choisies afin que les prélèvements puissent être réalisés sur trois types de dispositifs différents :

1. les bassins versants de référence d'Auradé sur le cours d'eau Montoussé et de l'Hay, instrumentés à leur exutoire et qui bénéficient d'une lourde acquisition de données. Des mesures en continu des débits et de certaines mesures physico-chimiques ainsi que des suivis dynamiques de crues y sont pratiqués permettant d'avoir une information plus fine,
2. un groupe de bassins versants de taille comparables mais présentant des gradients d'occupation des sols et des pressions polluantes variés : le cours d'eau Jasse, dont le bassin versant est forestier, servant de référence et celui appelé Vermeil, à plus forte pression polluante et également le couple de station sur la Gèze avec une station de référence à Organ et une station plus polluée à Peyret St André,
3. des continuum fluviaux en suivant des profils longitudinaux de pression agricole croissant. Trois cours d'eau sont étudiés :
 - le Sousson dont les trois sites de prélèvement sont situés à Aujan, Dareous et Auch,
 - le Touch, dont les quatre stations se trouvent sur les communes de Lilhac, Fabas, Savère et Lamasquère,
 - la Save avec quatre stations situées au niveau des Gorges, Anan, Espaon et Cazaux Saves.

Il s'est avéré que les résultats concernant les trois continuums : Sousson, Touch et Save apportaient le plus d'informations. C'est pourquoi ce rapport se focalisera essentiellement sur l'étude des trois cours d'eau que nous allons présenter dans la partie suivante.

b. Les caractéristiques des continuums étudiés

Les principales caractéristiques des trois cours d'eau étudiés figurent dans le tableau suivant :

Cours d'eau	Superficie du bassin versant (Km²)	Longueur (km)	Nature du cours d'eau	Occupation du bassin versant	Nature du régime hydraulique
Sousson	120	52.58	Recalibré	Agricole	Influencé par des réalimentations artificielles (canal de la Neste) et prélèvements
Save	1442	150	Recalibré vers l'aval	Agricole	Influencé par réalimentations artificielles (canal de la Neste et réserve de la Gimone) et prélèvements.
Touch	515	112.88	Recalibré	Agricole	Pas ou peu influencé

Tableau 1 : Caractéristiques principales de la Save, du Sousson et du Touch

La description détaillée des stations étudiées sur les trois cours d'eau figure en annexe 1.



Figure 2 : Quelques photographies des cours d'eau : le Sousson à Darzens (en haut à gauche), la Save à Cazaux (en haut à droite) et le Touch à Fabas (en bas)

Partie D : Présentation du matériel et des méthodes utilisés

I. Démarche et déroulement de l'expérimentation *in situ*

1. Protocole de terrain

Au niveau de chaque station, plusieurs opérations doivent être réalisées :

- **les caractéristiques de chaque station** doivent être décrites : la morphologie générale (largeur du lit, hauteur d'eau, végétation) la luminosité, le courant, les caractéristiques physico-chimiques mesurées à l'aide d'appareil de terrain (O₂ dissous, température, pH et conductivité),
- **2 litres d'eau** doivent être prélevés pour les analyses de chimie (1 L pour les dosages des pesticides et 1 L pour ceux des nutriments)
- **les prélèvements de diatomées** sur substrats naturels et artificiels.

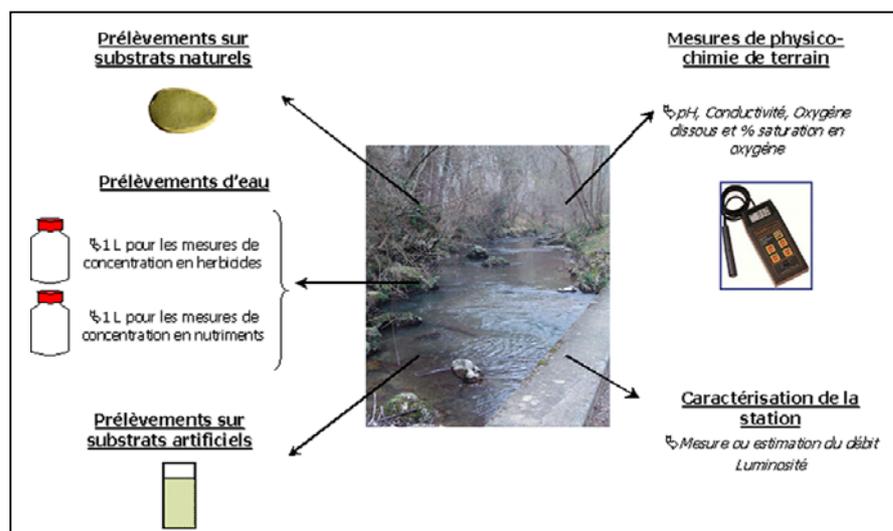


Figure 10 : Protocole de terrain

2. Dispositif utilisé pour l'étude des populations de diatomées benthiques

Le dispositif expérimental utilisé est constitué d'une cage dans laquelle 3 lames de verre faisant office de substrats artificiels (3 réplicats) sont disposées. Ces cages sont installées au niveau de chaque station, et maintenues immergées. Le biofilm dans lequel se développent les diatomées, colonise progressivement les substrats artificiels.

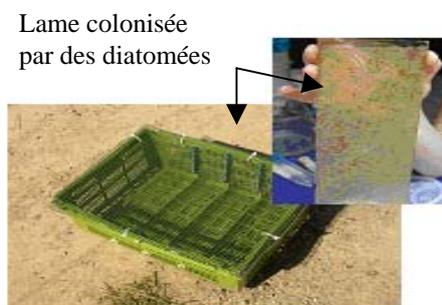


Figure 11 : Dispositif expérimental

3. Période et fréquence de prélèvement

Les sorties sur le terrain se sont déroulées du mois de mars au mois de juin à raison de quatre campagnes de prélèvements à intervalle régulier de 3 semaines. Le date a été choisie en tenant compte des pratiques agricoles de manière à pouvoir mesurer l'influence des fertilisations et traitements phytosanitaires sur les flores diatomiques:

- Mars- avril: mesure intégrée des traitements de sorties d'hiver et des premières fertilisations.
- Avril-mai: mesure intégrée des traitements et fertilisations de printemps sur culture en place.
- Mai-juin: mesure intégrée des traitements et fertilisations de printemps sur culture en place et des désherbages des cultures d'été.

II. Protocole d'échantillonnage et méthodes utilisées

1. Protocole d'échantillonnage

a. Protocole de prélèvement sur les substrats artificiels

Une fois retirée de la cage, chaque lame est disposée dans un sac. Arrivées au laboratoire de terrain, les lames sont grattées à l'aide d'un racloir, afin de récupérer le biofilm développé. L'échantillon est recueilli dans un récipient et ramené à 100 mL.

A partir de cette solution, on prélève après homogénéisation :

- 5 mL pour les mesures de densité et les comptages de diatomées,
- 10 mL pour les mesures de chlorophylle *a*,
- 50 mL pour les mesures de matières organiques.

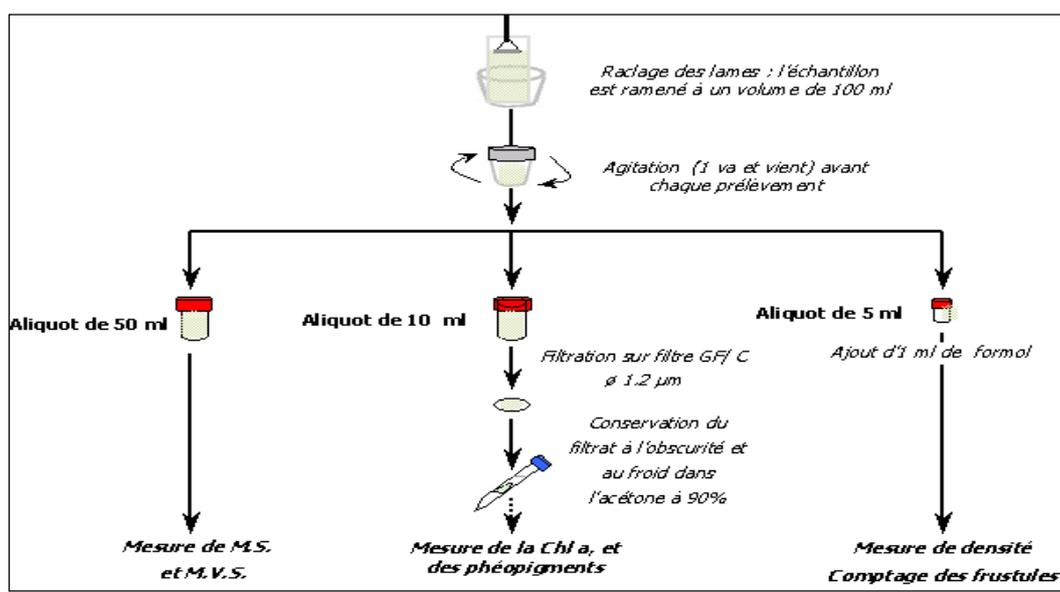


Figure 12 : Protocole de prélèvement sur substrats artificiels

b. Protocole de prélèvement sur substrats naturels

Pour chaque station, un prélèvement sur substrats naturels est effectué. Chaque prélèvement correspond au grattage de la surface d'un ou plusieurs galets proches à l'aide d'un scalpel. L'échantillon obtenu est ensuite placé dans un pilulier et fixé à l'aide de quelques gouttes de formaldéhyde à 35 %.

2. Etude du compartiment biologique : présentation des méthodes utilisées

Nous avons étudié plusieurs descripteurs propres au biofilm et aux diatomées :

- **Les descripteurs concernant l'état de colonisation des substrats artificiels :**
 - la chlorophylle *a*, permettant d'obtenir une estimation de la biomasse algale vivante,
 - la matière organique assimilable à la totalité de la matière vivante au sein du biofilm (algues, bactéries, champignons..),
 - les densités de diatomée pour évaluer leur importance au sein du biofilm.

- **Les descripteurs propres aux diatomées tous déterminés grâce aux comptages effectués à partir de préparations sur lames:**
 - Les abondances de formes anormales de diatomées,
 - Les indices de diversité,
 - Les populations de diatomées et leur répartition le long des gradient de pollution.

a. Protocole de dosage de la chlorophylle *a*

Le calcul des teneurs en chlorophylle *a* permet d'avoir une estimation de la biomasse algale vivante présente au sein d'un biofilm. Le dosage est réalisé par spectrophotométrie d'absorption moléculaire. Les étapes du protocole, selon la norme NT 90-117 (AFNOR 1999), sont les suivantes :

1. **Filtration** de 10 mL d'échantillon de biofilm initial sur membrane en fibre de verre GF/C.
2. **Extraction de la chlorophylle *a*** par ajout de 10 mL d'acétone à 90 %, le filtre reste 24 h dans l'acétone pour une complète extraction.
3. **Filtration** sur membrane en filtre de verre (CF/C), la quantité de filtrat récupérée est mesurée.
4. **Mesure des absorbances** au spectrophotomètre aux longueurs d'onde 665 et 750 nm avant et après acidification de l'échantillon avec quelques gouttes d'HCl (2N).

Les concentrations en chlorophylle *a* sont ensuite calculées grâce à l'équation de Lorenzen et ramenées à la surface du substrat artificiel colonisé.

b. Protocole de dosage des matières sèche sans cendre

Le principe de ce dosage est de mesurer la quantité de matières en suspension (MES) et de matières minérales (MM) contenues dans un échantillon de biofilm afin d'en déduire celle des matières organiques (MO). Les teneurs sont ramenées à la surface du substrat colonisé (S).

Les étapes du dosage sont les suivantes :

1. **Filtration** de 10 à 20 mL (volume = V) d'échantillon (selon la charge de l'échantillon) sur filtre en fibre de verre préalablement taré (P1 = poids du filtre taré avant filtration).

2. **Passage des filtres à l'étuve** à 110 °C pendant 1 h puis au dessiccateur pendant 15 minutes et pesée de chaque filtre (poids du filtre obtenu = P2) => calcul des MES = $(P2-P1)/V/S$ (g/L/cm²).
3. **Passage des mêmes filtres au four** à 500 °C pendant 1 heure puis au dessiccateur pendant 15 minutes et pesée de chaque filtre (poids du filtre obtenu = P3) => calcul des MM = $(P3-P1)/V/S$ (g/L).
4. **Calcul des teneurs en matières organiques** : $MO = (P2-P3)/V/S$.

c. Protocole de réalisation des lames permanentes de diatomées

L'identification des diatomées s'appuie sur l'examen en microscopie photonique de leur squelette siliceux. Pour cela des lames sont préparées selon le protocole normalisé suivant (AFNOR NF EN 13946 et AFNOR NF EN 14407) :

1. Digestion de la matière organique

Après 24 h de sédimentation une partie aliquote des échantillons formolés subit un traitement au peroxyde d'hydrogène à chaud (H₂O₂ 30%). Une fois refroidis, les échantillons sont soumis à une centrifugation (5 minutes à 5000 tr/min) et le culot obtenu est remis en suspension. Cette opération est répétée trois fois pour une complète élimination des résidus d'eau oxygénée.

2. Préparation des lames

Une partie de l'aliquote est déposée sur une lamelle qui va être lentement chauffée. Une fois déshydratée la lamelle est retournée sur une goutte de Naphrax¹² déposée sur une lame. Un chauffage modéré permet de fixer la lamelle, d'éliminer les bulles et aboutit à la fabrication d'une lame permanente.

3. Comptage à partir des lames

Le comptage des différentes espèces de diatomées est réalisé sous immersion à l'aide d'un microscope photonique (LEICA) au fort grossissement (objectif 100). Le minimum de valves à compter est de l'ordre de 400. Le balayage doit s'opérer de droite à gauche et de haut en bas.

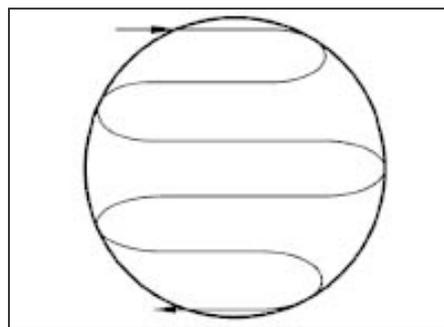


Figure 13 : Balayage de la lame selon la norme NF T90-354 AFNOR 2000

d. Evaluation des densités de diatomées

Les densités de diatomées sur les substrats artificiels colonisés sont calculées pour chaque station. Des comptages sont réalisés sur une cellule de Nageotte en distinguant les cellules avec plastes que l'on assimile à des cellules vivantes et sans plastes que l'on assimile à des cellules mortes. A partir des comptages réalisés sur cinq rectangles (de 1.25 mm³), on calcule le nombre de diatomées par mm³.

¹² Résine réfringente dont l'indice de réfraction est de 1.74

3. Analyse chimique des prélèvements d'eau

Les analyses d'eau ont été effectuées, au Cemagref, par le laboratoire de l'Unité « Réseau, Épuration et Qualité des Eaux ».

Deux types d'analyses ont été effectuées :

- **les analyses physico-chimiques** qui nous permettent d'obtenir les données concernant les concentrations des formes azotées et phosphorées de nos échantillons,
- **les analyses de micropolluants** qui nous fournissent les concentrations en herbicides.

a. Analyse des formes azotées et phosphorées

Les différentes analyses utilisées ainsi que les normes auxquelles elles se réfèrent sont indiquées dans le tableau suivant :

Molécules chimiques dosées	Méthodes de dosages	Normes
Nitrates (NO ₃) Nitrites (NO ₂)	Méthode colorimétrique par analyse en flux	NF EN ISO 13395
Azote ammoniacal	Méthode colorimétrique par analyse en flux	NF EN ISO 11732
Azote Kjeldahl	Distillation et minéralisation	NF EN 25663
Orthophosphates (PO ₄) Phosphore total	Méthode spectrométrique	NF T 90-023
Phosphore	Méthode spectrométrique	NF EN 1189

Tableau 2 : Méthodes chimiques utilisées pour les dosages des formes azotées et phosphorées

b. Dosage des herbicides

Le laboratoire utilise la technique de séparation par HPLC (High Performance Liquid Chromatography) pour le dosage des herbicides.

Ce dosage se fait en trois étapes qui peuvent être résumées ainsi:

- **Extraction liquide-solide sur cartouche** : elle permet une pré-concentration des polluants avant analyse sans laquelle les teneurs en micropolluants dans l'eau sont indétectables. Le laboratoire du Cemagref utilise donc des cartouches de silice greffée C18 pour extraire les herbicides contenus dans l'échantillon. A l'issue de cette étape un facteur de concentration de 200 est obtenu permettant d'atteindre une limite de détection de 20 ng/l.
- **Analyse séparative par HPLC** : elle permet de séparer les différents constituants contenus dans l'échantillon.
- **Détection UV à barrettes de diode** : le mode de détection utilisé repose sur l'absorption des molécules à différentes longueurs d'onde. Il s'agit d'un détecteur UV à barrettes de diodes permettant de balayer un spectre allant de 192 nm à 360 nm. Un logiciel appelé Chromquest est ensuite utilisé pour enregistrer les spectres d'absorption et analyser les chromatogrammes obtenus afin de déterminer les molécules.

4. Disponibilité des données

Le dispositif expérimental ayant été emporté par une crue, les données sur la station Espauon, qui se situe en aval de la Save, ne sont pas disponibles pour début mai.

A l'heure de l'achèvement de ce rapport, les données concernant les populations de diatomées pour fin mai et juin ne sont pas disponibles les comptages étant toujours en cours de réalisation.

Les concentrations en pesticides du mois juin ne sont pas encore disponibles.

5. Analyse des données

Afin de voir si nos données, pour chaque station, pouvaient être étudiées en moyennant les valeurs de nos trois réplicats nous avons réalisé une analyse de variance à un facteur. Elle a été faite pour l'ensemble des paramètres étudiés et pour chaque date de prélèvement. Chaque analyse a permis de montrer qu'il n'existait pas de variabilité entre les réplicats, nous permettant ainsi de travailler sur les valeurs moyennées.

Pour étudier l'évolution des paramètres biologiques en fonction de la pression agricole qui change avec les périodes de traitement, une analyse de variance à un facteur a été effectuée sur les données biologiques. Elle nous permet, lorsqu'on observe des différences en fonction du temps, de savoir si elles sont significatives.

L'objectif de ce travail est de donner des pistes pour trouver les descripteurs biologiques les plus intéressants pouvant être reliés à un gradient de pollution agricole par les pesticides. Nous avons donc étudié les corrélations¹³ de chaque paramètres biologiques avec l'ensemble des paramètres abiotiques étudiés (concentrations en pesticides, nutriments, température...).

Partie E : Présentation et analyse des résultats

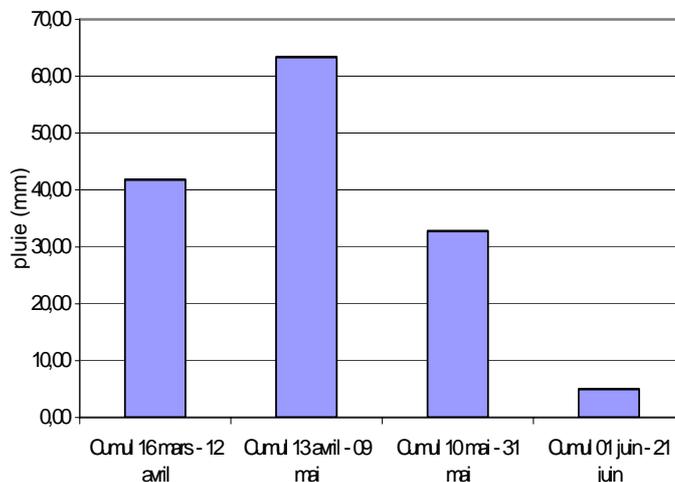
Dans cette partie, nous exposerons tout d'abord les résultats concernant les différents facteurs abiotiques caractérisant les cours d'eau. Puis dans un second temps, nous évoquerons les résultats des paramètres biologiques étudiés en commençant par les mesures concernant l'état de colonisation du biofilm (matières organiques, chlorophylle *a* et densité de diatomées) avant de décrire les populations de diatomées à travers certaines de leur caractéristiques (formes anormales et diversité).

I. Caractérisation abiotique des continuums

1. Pluviométrie

Les données de pluviométrie concernant la période d'expérimentation ont été obtenues. En comparaison avec les autres mois, la période comprise entre le 13 avril et le 9 mai s'est révélée être très pluvieuse certainement marquée avec des épisodes orageux brefs et intenses.

A l'inverse le mois de juin marquant le début de la période estivale, présente une très faible pluviométrie.



¹³ La corrélation mesure le degré de liaison qui unit deux variables ou davantage. Elle indique si les variations des valeurs d'une variables sont reliées ou non aux variations des valeurs d'une ou plusieurs autres variables

Figure 14 : Pluviométrie sur la zone d'étude de mars à juin 2005

2. Débit

Nous avons pu obtenir, grâce à la Direction Régionale de l'ENvironnement Aquitaine (DIREN) les débits relevés pour l'année 2005. Les bassins versants du Touch, de la Save et du Sousson étant relativement proches, les données se sont révélées identiques. L'évolution des débits au cours de l'expérimentation est exposée dans le graphique suivant à travers les données concernant le Touch.

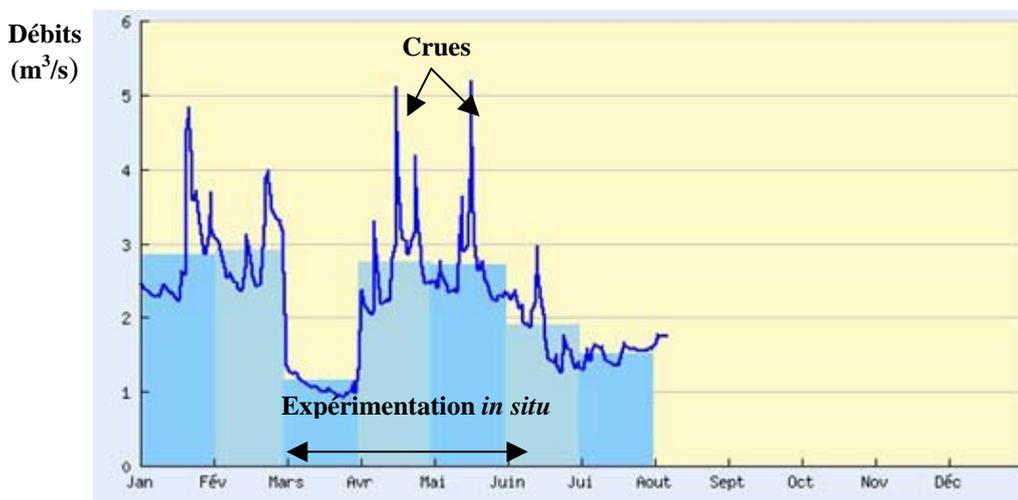


Figure 15 : Mesure de débit sur le Touch pour l'année 2005

(<http://hydro.rnde.tm.fr>)

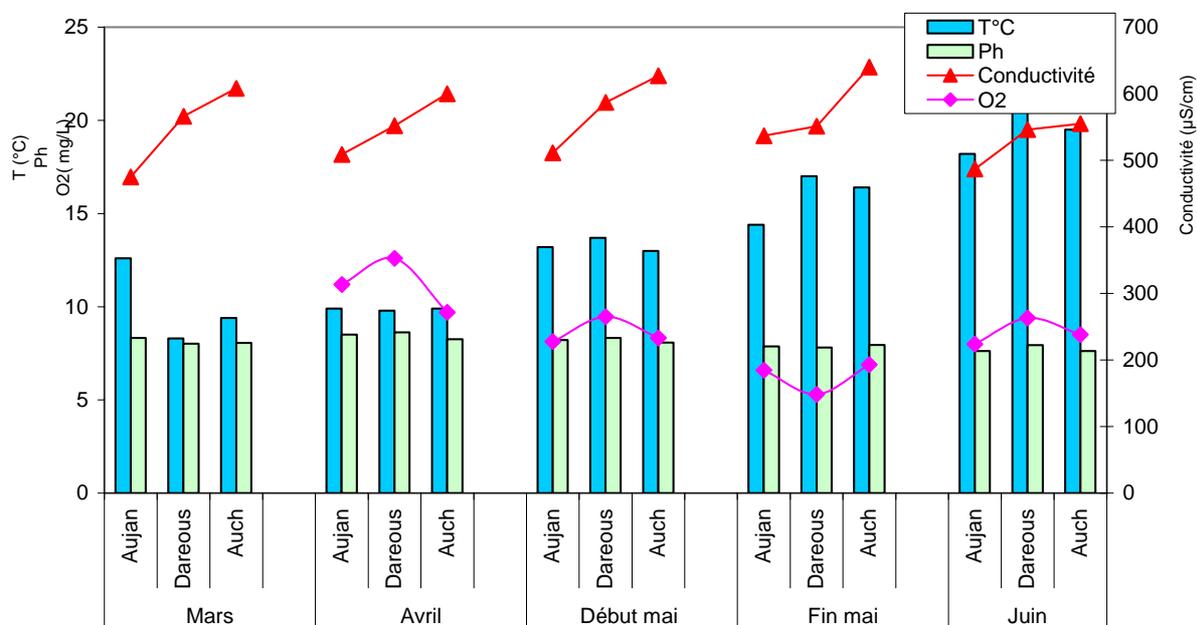
Ces données nous permettent de mettre évidence une forte augmentation des débits du fait de deux épisodes de crues : la première mi-avril et la seconde mi-mai.

3. Mesures des paramètres physico-chimiques

A chaque sortie sur le terrain, une mesure des paramètres physico-chimiques (pH, température, conductivité et oxygène dissous) a été effectuée. A cause d'une déficience de la sonde oxymétrique, les mesures de concentration en oxygène dissous n'ont pas été réalisées au mois de mars.

Les évolutions des données obtenues sur l'ensemble des stations ont été représentées sous forme de graphique (figure 16, les graphiques de la Save et du Touch : voir annexe 2).

Ces résultats ont révélé que pour l'ensemble des paramètres, les trois continus présentent les



mêmes évolutions de l'amont vers l'aval et tout au long de l'expérimentation.

En ce qui concerne le pH, les valeurs sont quasiment identiques entre les cours d'eau et restent constantes tout au long de l'étude. Elles restent comprises entre 7.6 et 8.8 indiquant une eau neutre à basique, de bonne qualité pour ce paramètre.

Les températures augmentent progressivement au cours du temps mais aucun gradient amont-aval n'est observé.

La conductivité, quant à elle, reste relativement élevée sur toute la période d'expérimentation.

Les concentrations en oxygène dissous diminuent faiblement sur les trois continuums entre le mois d'avril et le début du mois de mai, puis remontent légèrement au mois de juin. Elles restent tout de même assez élevées tout au long de l'expérimentation indiquant une eau bien oxygénée (cf grille de qualité Seq-eau : annexe 3)

Bilan

Globalement les paramètres physico-chimiques des trois continuums évoluent au cours du

Figure 16 : Evolution des caractéristiques physico-chimiques du Sousson au cours de l'étude

temps de la même façon et indiquent une eau de bonne qualité tout au long de l'étude (cf grille Seq-eau). La légère baisse de l'oxygène dissous doit être liée à l'augmentation estivale des températures.

4. Evaluation de la contamination par les nitrates et les orthophosphates

Afin de visualiser d'éventuelles pollutions trophiques, le dosage des nitrates (NO_3) ainsi que celui des orthophosphates (PO_4) ont été réalisés à partir des prélèvements d'eau effectués. Les résultats obtenus sont exposés sous forme d'histogrammes afin de percevoir l'évolution des concentrations tout au long de l'expérimentation (figure 17, 18, 19 et 20). Un code couleur a également été utilisé (tableau 2 ci dessous) afin de visualiser la qualité d'eau vis à vis des nitrates et des orthophosphates, définie selon la grille de qualité du Seq-Eau (annexe 3).

Le Sousson

Globalement les teneurs en nitrates sont assez élevées et la qualité de l'eau vis à vis de ce paramètre est passable à mauvaise tout au long de l'étude (cf grille de qualité SEQ-eau : annexe 3).

Au cours du temps, le mois de juin présente les concentrations les plus élevées avec des valeurs pour Dareous (38 mg/L) et Auch (30 mg/L) qui implique une mauvaise qualité de l'eau (concentration supérieure à 25 mg/L d'après SEQ-eau).

Les concentrations en nitrates,

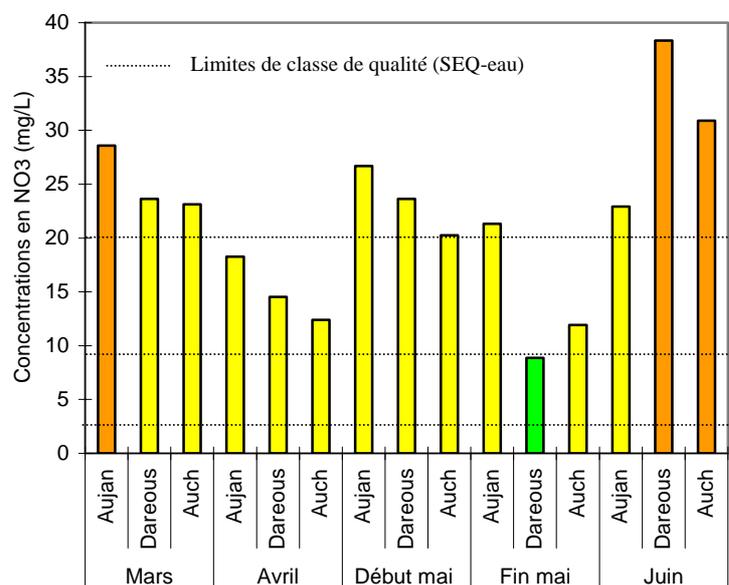


Figure 17 : Evolution des concentrations en NO_3 le long du Sousson à chaque période de prélèvements 35

ont tendance à diminuer de l'amont vers l'aval, sauf fin mai et en juin.

Vis a vis des orthophosphates, les concentrations sont faibles le long du continuum et sur toute la période des prélèvements. La qualité de l'eau reste très bonne à bonne. Seuls la concentration en PO₄ sur Dareous, en juin, indique une qualité passable. Il ne semble y avoir aucune pollution du cours d'eau par les orthophosphates.

Classe de qualité de l'eau	Couleur associée
Très bonne	Cyan
Bonne	Vert
Passable	Jaune
Mauvaise	Orange
Médiocre	Rouge

Tableau 3 : Tableau récapitulatif des codes couleurs des classes de qualité d'après la grille SEQ-Eau

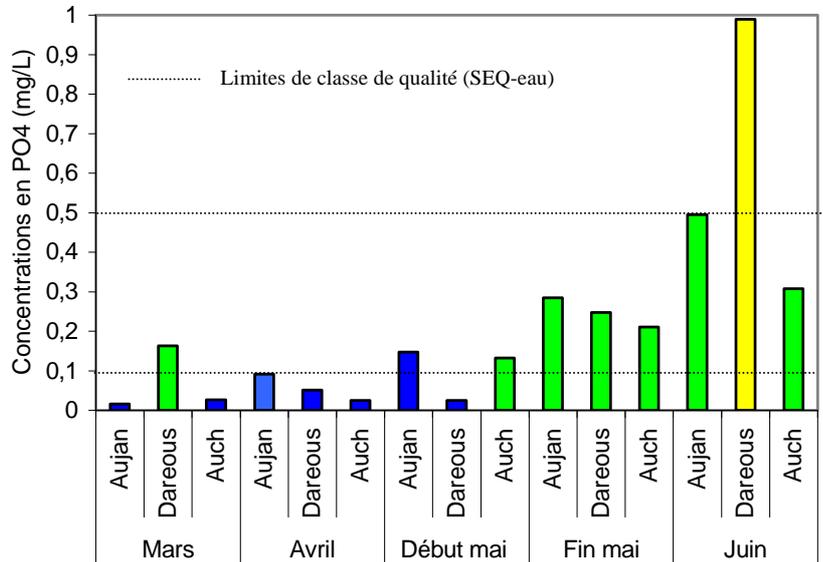


Figure 18: Evolution des concentrations en PO₄ le long du Sousson à chaque période de prélèvements

La Save

Le graphique ci contre nous indique qu'à la différence du Sousson, les concentrations en NO₃ sur la Save restent modérées aux différentes dates de mesure. En revanche, on note un gradient croissant des concentrations de l'amont vers l'aval et cette tendance se retrouve à chaque date de prélèvement.

En se référant à la grille du Seq-eau, la qualité de l'eau apparaît globalement bonne à passable tout au long de l'expérimentation voir très bonne en amont (en juin sur les Gorges).

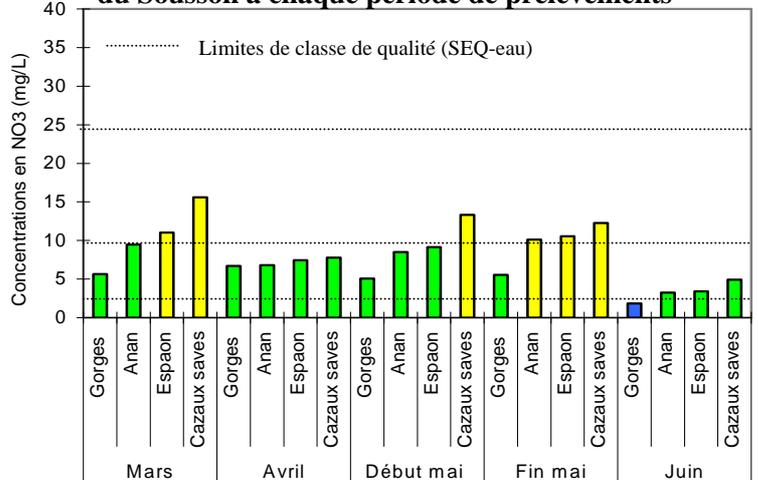


Figure 19: Evolution des concentrations en NO₃ le long de la Save à chaque période de prélèvement

Les résultats concernant les orthophosphates ne révèlent aucune pollution (annexe 3). La qualité de l'eau pour ce paramètre reste en général bonne tout au long de l'étude.

Le Touch

Comme pour la Save, on note un gradient de contamination amont-aval. Cette augmentation est nettement visible en mars et juin mais pour les mois d'avril et mai, on peut voir des concentrations les plus élevées à Savère où la qualité de l'eau pour les nitrates est passable. En juin la qualité s'améliore, elle est bonne tout le long du cours d'eau avec une infime concentration à Lilhac.

En ce qui concerne les concentrations en orthophosphates, elles sont très faibles tout au long de l'expérimentation et ne révèlent aucune pollution (annexe 3).

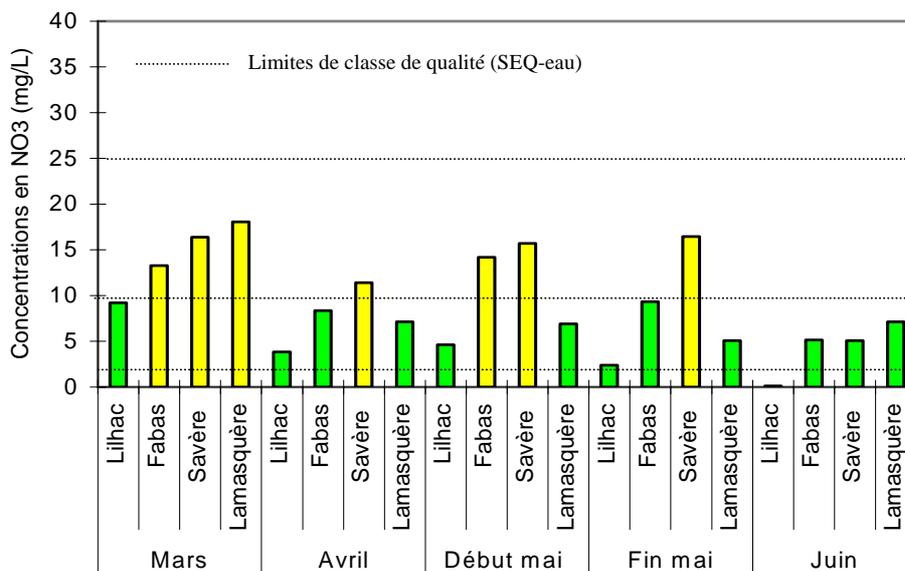


Figure 20: Evolution des concentrations en NO₃ le long du Touch à chaque période de prélèvement

Bilan

Le Sousson apparaît comme étant le cours d'eau le plus pollué par les nitrates. Des concentrations très élevées, illustrant une eau de mauvaise qualité ont été relevées. Le Touch et la Save présentent des concentrations plus faibles qui leur confèrent, globalement le long de l'étude, une qualité bonne à passable. Une explication possible de la forte présence des NO₃ dans le Sousson est qu'il possède un bassin versant de petite taille, fortement occupé par des cultures de maïs. Ainsi lors d'intenses épisodes pluvieux, des quantités importantes de nitrates, appliquées sur les cultures comme fertilisants, peut être lessivées et se retrouvées dans le Sousson.

Aucun des continuums ne semble pollué par les orthophosphates dont les concentrations restent faibles tout au long de l'expérimentation et traduisent une qualité des eaux bonne à très bonne. Il y a donc vraisemblablement très peu d'apport en orthophosphates au sein des cours d'eau. La rareté des habitations dans la zone d'étude limitent certainement un apport domestique des orthophosphates. La faible proportion des résidences qui bordent les cours d'eau sont certainement raccordées aux réseaux d'assainissement ou possèdent des systèmes d'assainissement autonomes qui fonctionnent parfaitement.

5. Mesure des concentrations en pesticides

Les différentes molécules détectées lors des dosages ainsi que leurs concentrations respectives figurent en annexe 4. Nous avons décidé de représenter graphiquement, pour chaque continuum, l'évolution des concentrations des molécules majoritaires au cours de l'expérimentation. Les dosages du mois de mars n'ayant donné aucun (très peu de molécules ont été dosées et en très faibles quantité) nous n'en ferons pas référence. De plus les résultats de la campagne de juin n'ayant pas encore été obtenus, il ne figureront pas dans le rapport.

Si on se réfère au tableau de résultat (annexe 4), on peut remarquer tout d'abord qu'une molécule est présente sur toutes les stations et à chaque date de prélèvement, il s'agit de l'atrazine. Un des métabolites de dégradation de cette molécule est également fortement présent sur les trois continuums au mois de mai : c'est le DEA (dééthylatrazine). Les autres molécules détectées sont principalement l'achlonifen, l'acétochlore, l'isoproturon, le linuron et le diuron.

Pour chaque cours d'eau, nous avons représenté qu'elle a été l'évolution des concentrations totales en herbicides ainsi que la proportion de chaque molécule dosée (figure 21, 22, 23).

Le Sousson

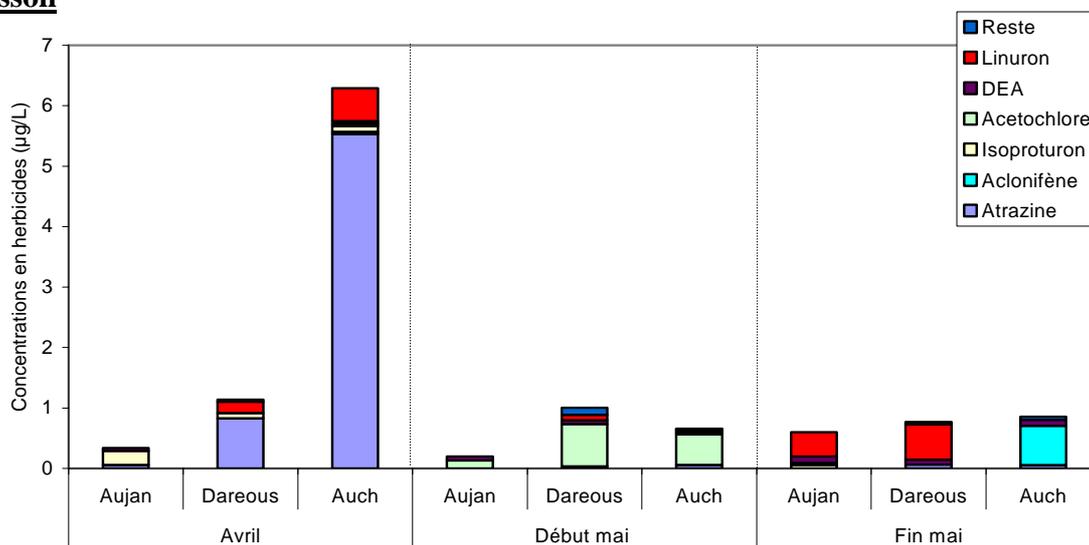


Figure 21 : Evolution des concentrations en herbicides le long du Sousson

En ce qui concerne les principales molécules détectées, on peut noter qu'en avril, l'atrazine prédomine largement parmi les autres herbicides dosés, avec une très forte concentration sur la station aval, Auch (5.53 µg/L). Début mai c'est l'acétochlore, désherbant pour le maïs, que l'on trouve en plus grande quantité dans toutes les stations. Puis fin mai c'est le linuron, homologué pour de nombreux usages, qui domine.

En ce qui concerne les concentrations totales en herbicides, l'augmentation est légère de l'amont vers l'aval du cours d'eau sauf pour le mois d'avril où on note une forte hausse due aux concentrations très importantes d'atrazine. Les valeurs de concentration sont globalement comprises entre 0.02 et 1.2 µg/L sauf à Auch en avril où la concentration totale est égale à 6.3 µg/L ce qui traduit une très mauvaise qualité de l'eau vis à vis des pesticides.

La Save

Comme pour le Sousson, la molécule la plus représentée au mois d'avril est l'atrazine. Début mai l'atrazine est également présente sur l'ensemble des stations, ainsi que son métabolite le DEA, mais la molécule majoritaire est le diuron, substance active largement utilisée pour le désherbage des zones non agricoles (parcs, jardins...). Fin mai, l'aclonifène prédomine à l'aval du cours d'eau notamment à Cazaux où sa concentration atteint 0.78 µg/L.

En ce qui concerne les concentrations totales en herbicides, elles sont assez faibles en avril, tandis qu'elles augmentent de façon très marquée, début mai, sur l'ensemble des stations. Fin mai, les concentrations diminuent en amont mais augmentent très fortement à Cazaux (0.87 µg/L) impliquant une mauvaise qualité de l'eau vis à vis des pesticides (grille de qualité Seq-Eau).

A chaque date de prélèvement, on peut remarquer un gradient des concentrations totales de l'amont vers l'aval du cours d'eau, impliquant une eau de meilleure qualité en amont (annexe 2).

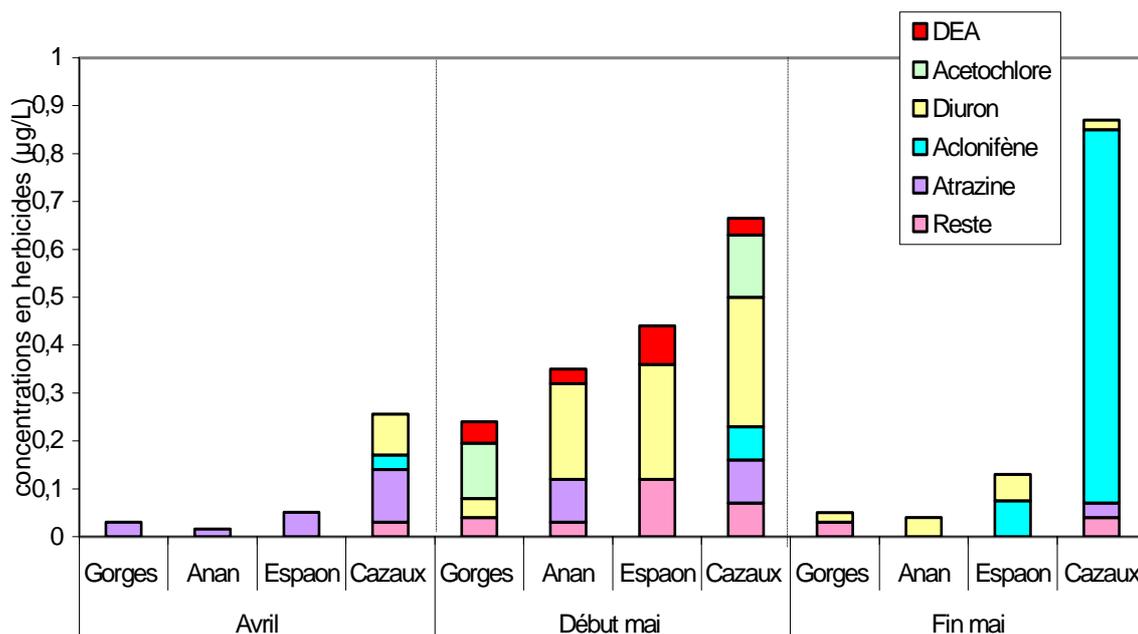


Figure 22 : Evolution des concentrations en herbicides le long de la Save aux différentes périodes de prélèvement

Le Touch

Le graphique ci contre nous indique que, comme sur les deux autres cours d'eau, l'atrazine domine au mois d'avril. En mai on note une forte présence du DEA, ainsi que de l'acétochlore, début mai à Lilhac et Fabas.

En avril les concentrations totales diminuent de l'amont vers l'aval, alors qu'en mai aucune tendance d'évolution amont-aval n'est constatée.

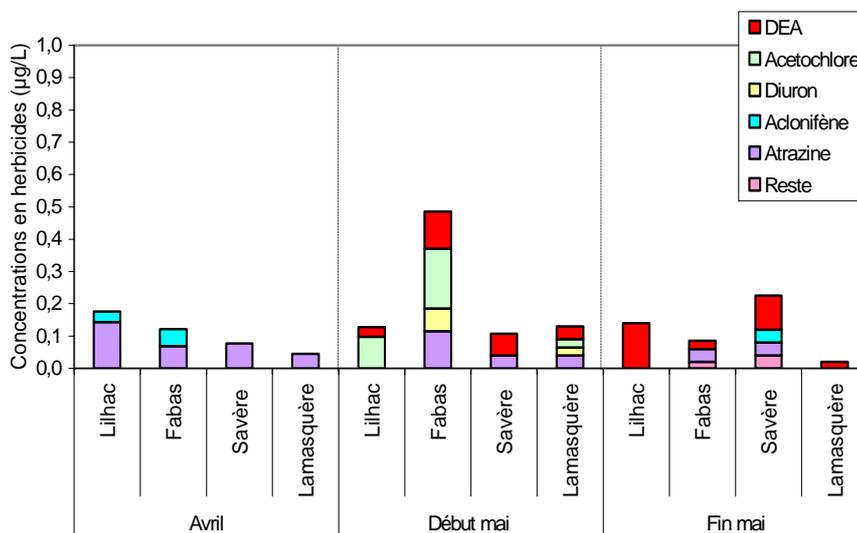


Figure 23 : Evolution des concentrations en herbicides le long du Touch aux différentes périodes de prélèvement

Bilan

Une molécule a été dosée au niveau de toutes les stations et à chaque analyse, il s'agit de l'atrazine utilisée antérieurement pour le désherbage des champs de maïs. Or elle est interdite d'utilisation depuis 2003 du fait de sa très grande toxicité pour le milieu aquatique et les organismes

qui y vivent. Son temps de demi vie dans le sol étant de 60 jours, il parait impossible que les mesures effectuées soient seulement des traces d'utilisations antérieures. Il semblerait donc que l'atrazine soit utilisée illégalement au niveau de notre zone d'étude. Le DEA, un de ces métabolites est également présent en grande quantité sur la majorité des stations, ce qui confirme son utilisation. Le maïs occupant une grande partie des cultures de la zone d'étude il n'est donc pas étonnant de la trouver sur l'ensemble des stations et tout au long de l'expérimentation.

En terme de concentrations totales, les valeurs relevées restent assez faibles, inférieures à 1 µg/L et ne reflètent pas l'activité agricole intensive qui s'exerce autour des cours d'eau. Mais il faut garder à l'esprit que les résultats précédents ne permettent d'obtenir qu'un aperçu de la pollution par les pesticides agricoles. En effet, les prélèvements d'eau étant effectués à une date fixe, toutes les trois semaines (période de colonisation des diatomées), il est assez difficile d'avoir une information précise concernant l'ambiance chimique qui règne tout au long de cette période. De plus, de nombreux facteurs peuvent intervenir et avoir un impact sur les concentrations des produits présents dans les cours d'eau, tels que l'existence de divers facteurs de dilution et d'entraînements des produits (pluie, crues, courant) et le comportement chimique propre à chaque molécule (le temps de demi-vie plus ou moins court, solubilité...).

Il est donc possible que nos analyses n'ait pas permis d'identifier l'ensemble des molécules présentes dans les cours d'eau durant chaque période de colonisation et que les produits détectés ait été présents en concentrations beaucoup plus importantes.

Toutefois le but de nos dosages de pesticides a été de vérifier la présence d'herbicides dans les cours d'eau pendant les périodes de colonisation des diatomées afin d'évaluer si celles ci pouvaient être affectées par ces toxiques. Or on a pu constater la présence, sur les trois cours d'eau, d'un grand nombre de molécules se diversifiant au fil du temps et de l'intensification des traitements.

Sachant que les cours d'eau étudiés étaient contaminés par les pesticides agricoles pendant notre expérimentation, nous verrons dans la suite de ce rapport si les paramètres biologiques étudiées peuvent rendre compte de ce type de pollution.

6. Confrontation des notes de l'IBD avec les résultats de pesticides

Des études antérieures ont constaté l'inefficacité de l'IBD à intégrer les pollutions par les pesticides. Afin de vérifier cette observation, nous avons confronté les notes d'IBD avec les résultats de dosage de pesticides obtenus pour les trois cours d'eau.

L'IBD a été déterminé à partir des comptages réalisés sur les préparations de diatomées, à l'aide au logiciel Omnidia ©. Les comptages de fin mai et de juin sont en cours de réalisation, l'étude des populations de diatomées ainsi que le calcul des indices (IBD, diversité...), pour les deux derniers mois d'expérimentation, ne pourront pas être abordés dans ce rapport.

Nous avons représenté graphiquement l'évolution de l'IBD sur l'ensemble des stations de chaque cours d'eau entre les mois d'avril et début mai.

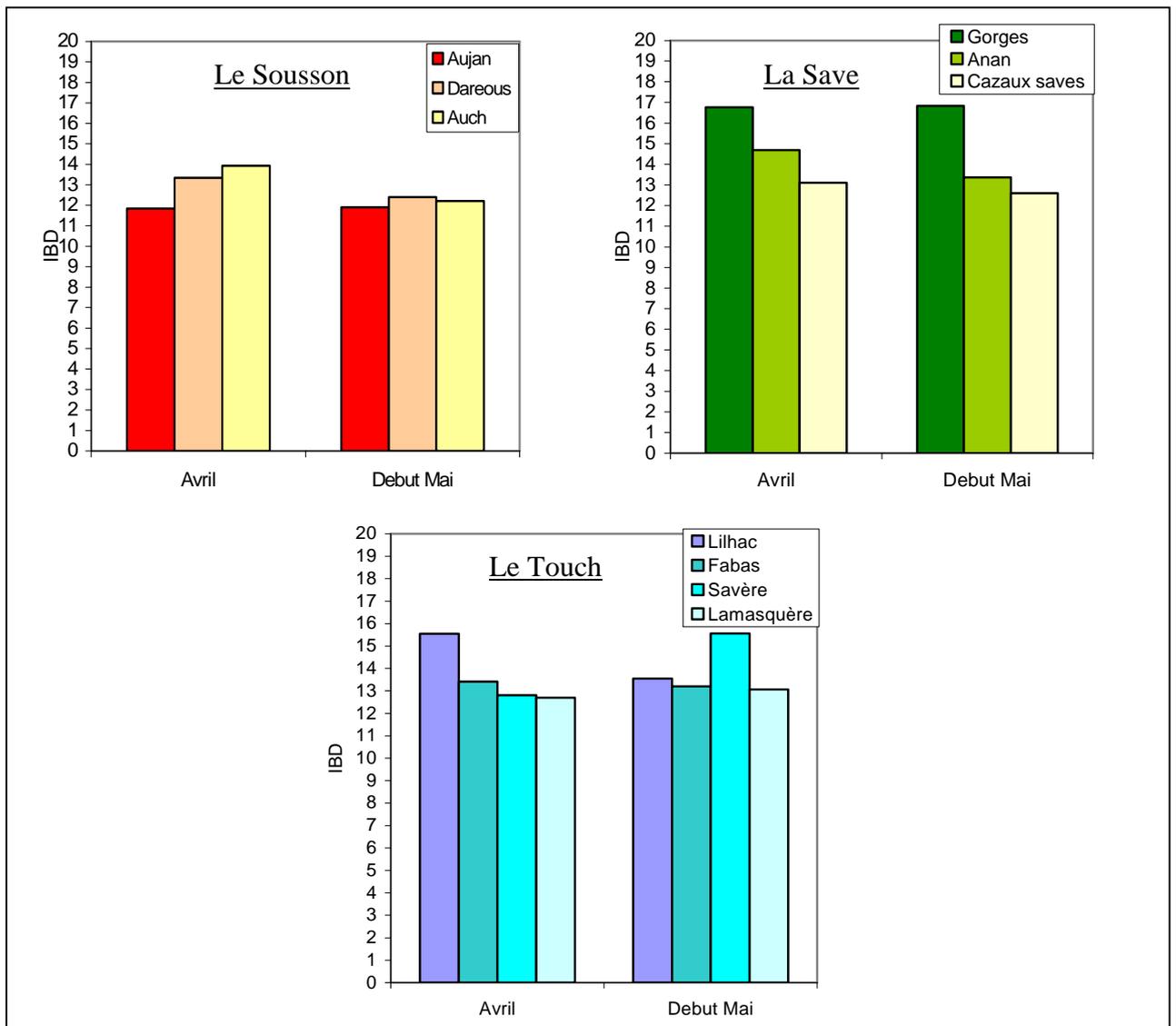


Figure 24 : Evolution de l'IBD entre avril et début mai de l'amont vers l'aval du Sousson, de la Save et du Touch

De façon générale, aucune différence entre les valeurs d'IBD n'est observée entre avril et début mai. De plus les notes sont également peu différentes et restent assez élevées entre les stations au sein de chaque continuum (toutes supérieures à 11.8).

En revanche, nous avons pu voir précédemment que nos résultats de pesticides présentaient des différences inter-stationnelles (partie E, I. 4). On a vu par exemple que pour le Sousson en avril, la concentration en pesticides sur la station aval, Auch, était très importante et 8 fois supérieure à celle trouvée début mai (figure 18), or si on regarde les notes d'IBD, elles sont quasiment identiques sur ces deux périodes (graphique ci dessus). De même pour la Save où, début mai, la concentration totale en pesticides, sur Cazaux, est le double de celle relevée en avril tandis que les notes d'IBD sont égales.

Ces observations nous permettent de confirmer que la note de qualité des eaux attribuée par l'IBD n'est pas en mesure de refléter les pollutions par les pesticides.

C'est pourquoi dans une seconde partie nous avons étudié d'autres paramètres biologiques afin d'évaluer leur capacité à rendre compte de ce type de contamination.

II. Analyse des paramètres biologiques du biofilm

Dans cette partie, nous verrons tout d'abord comment évoluent les paramètres quantitatifs liés à la colonisation du biofilm avant d'étudier plus précisément certains paramètres qualitatifs des populations de diatomées.

1. Etude des paramètres liés à la colonisation des substrats artificiels

a. Résultats de chlorophylle *a*

Nous avons représenté graphiquement l'évolution des teneurs en chlorophylle *a* du biofilm récupéré sur les substrats artificiels, le long des trois cours d'eau, aux différentes périodes de prélèvement.

La Save

Dans le cas de la Save, les teneurs en chlorophylle *a* évoluent de manière marquée au cours du temps. Si au mois d'avril, on ne note pas de différences fortes, début mai, les concentrations sont plus élevées sur les stations Cazaux et Anan qui voient leur teneur entre deux et trois fois supérieures à celles d'avril. Tel n'est pas le cas sur les Gorges, la station amont, où la teneur en chlorophylle *a* devient proche de 0 ($0.28 \mu\text{g/L/cm}^2$). A cette date, les données pour la station, Espaon, manquent car le dispositif expérimental a été emporté par une crue. Fin mai, une nette diminution des teneurs en chlorophylle *a* peut être observée pour toutes les stations tandis qu'au mois de juin les concentrations réaugmentent à l'exception de celle des Gorges qui reste proche de 0.

D'un point de vue spatial, et pour chaque date de prélèvement, aucun gradient amont-aval n'est observé.

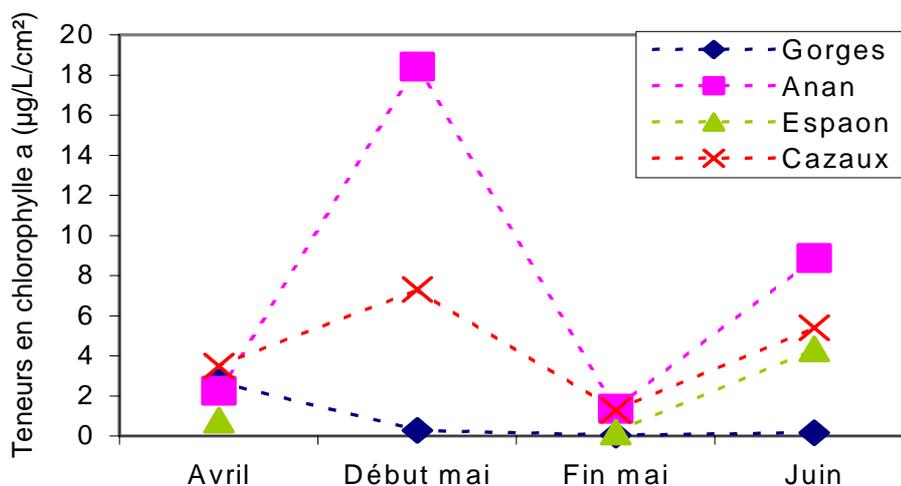


Figure 25 : Evolution des teneurs en chlorophylle *a* le long de la Save à chaque date de prélèvement

Le

Sousson

Comme sur la Save, les valeurs de chlorophylle *a* mesurées sur les trois stations sont assez proches en Avril. Début mai, la concentration sur Auch, la station aval, augmente tandis que celles des autres stations diminuent. De façon identique à la Save, une diminution des teneurs est observée, sur l'ensemble des stations, fin mai, mais de façon beaucoup moins marquée. Dans le cas des stations Aujan et Dareous les concentrations deviennent très proches de 0 tandis que celle de Auch reste plus élevée. En juin seule la station aval, Auch, connaît une augmentation de sa teneur en chlorophylle *a* qui redevient identique à celle relevée début mai.

A l'inverse de la Save, les teneurs en chlorophylle *a* suivent un gradient de concentration croissant de l'amont vers l'aval.

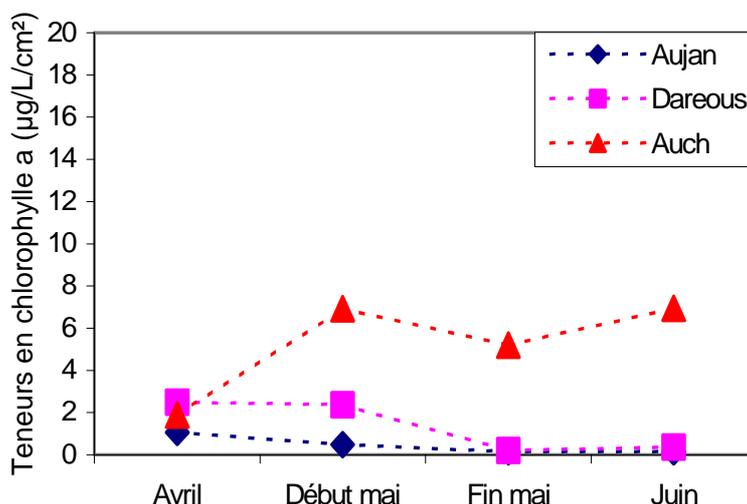


Figure 26: Evolution des teneurs en chlorophylle a le long du Sousson aux dates de prélèvement

Le Touch

On retrouve certaines tendances identiques à celle des autres continums. Tout d'abord les teneurs sont proches en début d'expérimentation. Puis début mai les teneurs augmentent, à l'exception de celle relevée sur Lilhac, la station amont. Cette augmentation est très marquée sur la station aval, Lamasquère. De la même façon que sur les autres cours d'eau, fin mai, les concentrations diminuent, sur toutes les stations. En juin, elles continuent à diminuer sur Lamasquère et Lilhac tandis que Fabas et Savère voient leur concentrations augmenter par rapport au mois de mai.

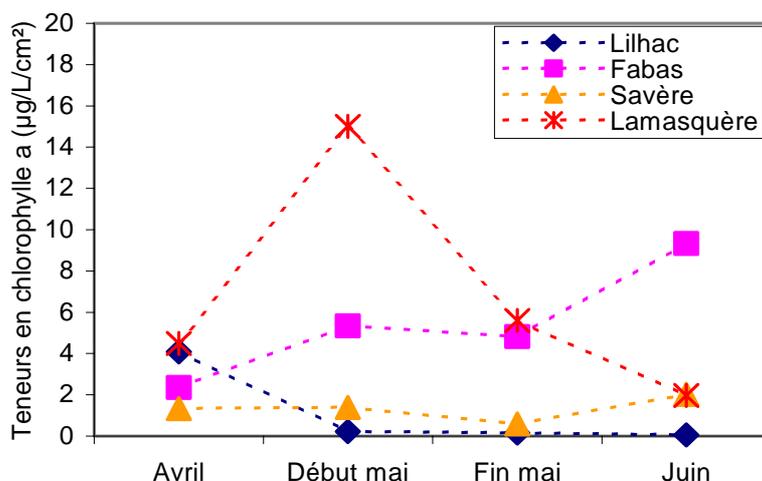


Figure 27 : Evolution des teneurs en chlorophylle a le long du Touch tout au long de l'étude

Interprétation

La principale observation concernant l'évolution des teneurs en chlorophylle a est que, globalement, sur les trois cours et sur la majorité des stations, elles augmentent entre avril et début mai et chutent significativement au cours du mois de mai avant de se redresser légèrement en juin.

Afin de vérifier cette observation graphique, nous avons fait une analyse de variance à un facteur (facteur = temps) qui a confirmé cette tendance ($P = 0.004 < 0.05$) comme en témoigne le graphique suivant :

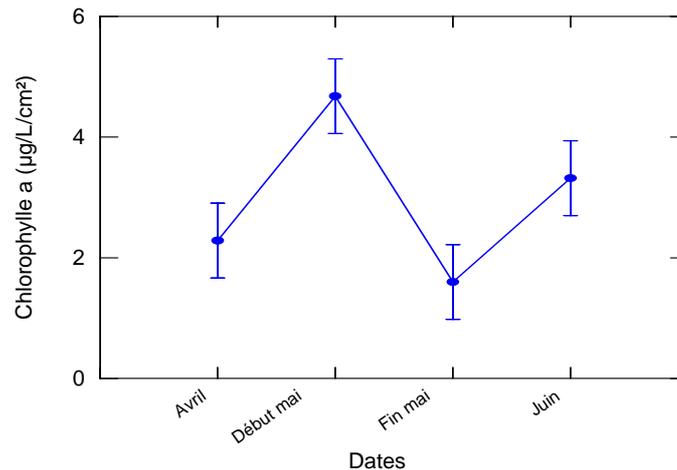


Figure 28 : Evolution des teneurs en chlorophylle *a* sur l'ensemble des stations

Cependant sur chaque cours d'eau, quelques stations ne suivent pas cette évolution. Au niveau des Gorges, par exemple, sur la Save, on a vu que les teneurs ne cessaient de chuter sur toute la période de l'expérimentation. Cela s'explique probablement par le fait que cette station est très ombragée par rapport aux autres stations, le manque de lumière ne favorisant pas le développement algal. De la même manière sur le Touch, on trouve une situation identique dans le cas de la station Lilhac, située en milieu forestier.

Le Sousson présente, lui, des variations moins marquées que les autres cours d'eau et les teneurs en chlorophylle *a* diffèrent relativement peu au cours de l'expérimentation. Une explication possible de cette différence est que ce cours d'eau présente des caractéristiques naturelles peu favorables au développement algal. En effet, c'est un cours d'eau de petite taille, dont les apports en eau proviennent des nappes superficielles des Coteaux de Gascogne qui sont très réduites, à l'inverse de la Save qui prend sa source dans le plateau du Lannemezan et du Touch qui possède de nombreux affluents. De ce fait il se peut qu'en hiver et au printemps il n'y ait qu'un faible renouvellement de l'eau et donc du milieu. De plus, du fait de l'intense occupation du bassin versant par l'agriculture, une forte pollution agricole conjuguée à un important colmatage altère la qualité du milieu. On peut alors penser que dans de telles conditions, le milieu est peu favorable au développement algal.

Étant donné les conditions climatiques favorables au développement algal (luminosité, températures estivales), la diminution brutale des teneurs observée début mai laisse penser que quelque chose a perturbé la colonisation des substrats artificiels par les communautés algales. Or cela coïncide avec l'intensification des traitements sur les cultures, ce nous avons pu confirmer lors des sorties sur le terrain. Et il est à noter que les analyses effectuées sur nos prélèvements ponctuels d'eau font apparaître une diversification du type de molécule. Il se peut donc que cette baisse de la colonisation des substrats soit liée à une exposition des populations algales aux herbicides.

Cependant, cette période est également marquée par des crues, conséquences d'intenses et courts épisodes pluvieux (figure 12 et 13). Il se peut donc que les substrats aient été érodés, expliquant la faible proportion des algues observée. Toutefois nos données de débits montre l'existence d'une crue au mois d'avril (figure 13) or sur la majorité des stations les teneurs en chlorophylle *a* ont augmenté au cours de cette période (II, 1. figure 23, 24 et 25).

Par conséquent, on peut donc penser que la baisse des teneurs en chlorophylle *a* n'est pas le fait d'une érosion du biofilm par les crues mais plutôt d'une exposition à des herbicides qui, lessivés par les pluies, ont été entraînés dans les cours d'eau.

Pour tenter d'affiner cette hypothèse, nous avons réalisé des calculs de corrélations (annexe 4) afin de mettre en évidence d'éventuelles relations entre le paramètre chlorophylle *a* et les données abiotiques (annexe 4). Mais ces résultats n'ont fait apparaître aucune corrélation.

Il reste, néanmoins, tout a fait possible que la diminution de la colonisation des substrats par les algues soit liée à la présence de pesticides dans les cours d'eau.

Nous allons regarder dans la partie suivante comment a évolué la biomasse organique totale prenant en compte non seulement les algues mais également les bactéries, champignons et autres organismes vivants au sein du biofilm tout au long de l'expérimentation.

b. Évolution des matières organiques au sein du biofilm

Comme pour le paramètre chlorophylle *a*, l'évolution des teneurs en matières organiques (MO) sur les trois cours d'eau, a été représentée graphiquement.

La Save

Les teneurs en matières organiques évoluent différemment sur chaque station, au cours de l'étude. Début mai, les concentrations en matières organiques des stations, Anan et Cazaux sont plus élevées qu'en avril tandis que celle des Gorges diminue. Comme pour la chlorophylle *a*, on observe une baisse des MO sur l'ensemble des stations, fin mai. Entre fin mai et juin, les teneurs évoluent très faiblement.

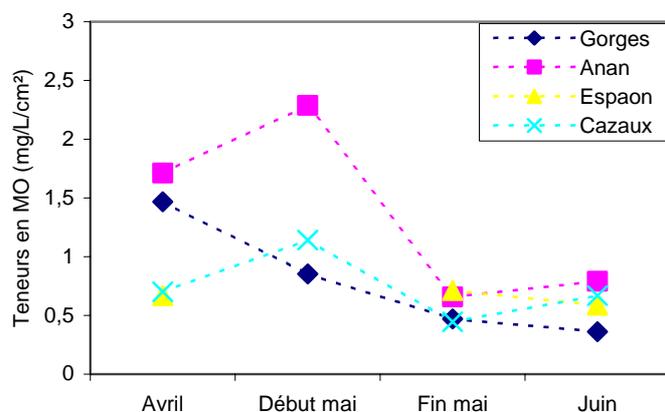


Figure 29 : Evolution des teneurs en matières organiques le long de la Save tout au long de l'étude

Le Sousson

On observe globalement pour chaque station une diminution des MO au cours du temps. Mis à part début mai (où Daréous présente la plus faible teneur) les MO sont de plus en plus importantes de l'amont vers l'aval du cours d'eau. La station aval, Auch, présente les teneurs les plus élevées tout au long de l'expérimentation.

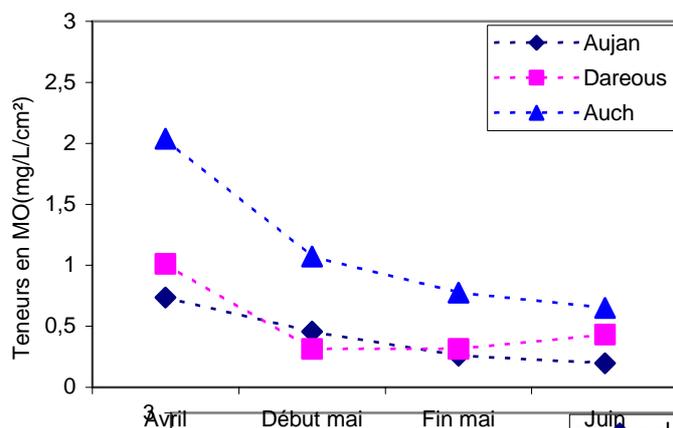


Figure 30 : Evolution des teneurs en matières organiques le long du Sousson au cours de l'expérimentation

Le Touch

En avril, les teneurs en MO sont de plus en plus importantes de l'amont (Lilhac) vers l'aval du Touch pour atteindre des valeurs assez élevées à Lamasquière. Début mai les MO sont présentes en plus faible quantité sur les lames de verre et ceci sur l'ensemble des stations, même si cette

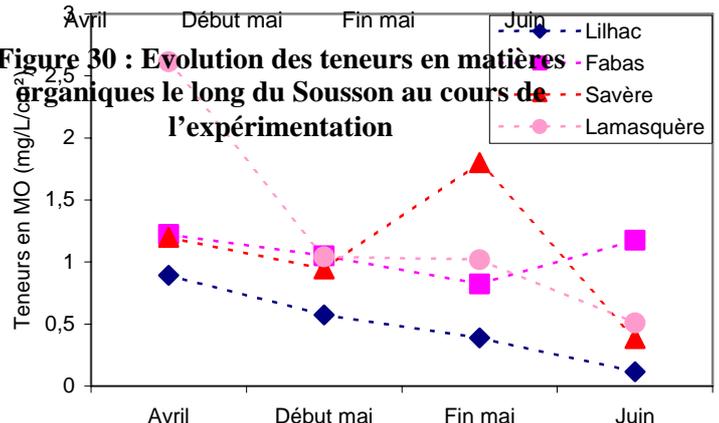


Figure 31 : Evolution des teneurs matières organiques le long du Touch au cours du temps

baisse est plus marquée pour la station Lamasquère. Fin mai les teneurs sont encore plus faibles à l'exception de celle de Savère qui augmente. Enfin en juin les valeurs sont plus faibles pour toutes les stations mis à part pour Fabas dont les teneurs augmentent.

Interprétation des résultats

L'analyse de variance montre que les teneurs en matières organiques sont significativement différentes à chaque période de prélèvement ($P = 0 < 0.05$), la tendance générale d'évolution étant marquée par une diminution de la biomasse organique totale tout au long de l'expérimentation (graphique suivant).

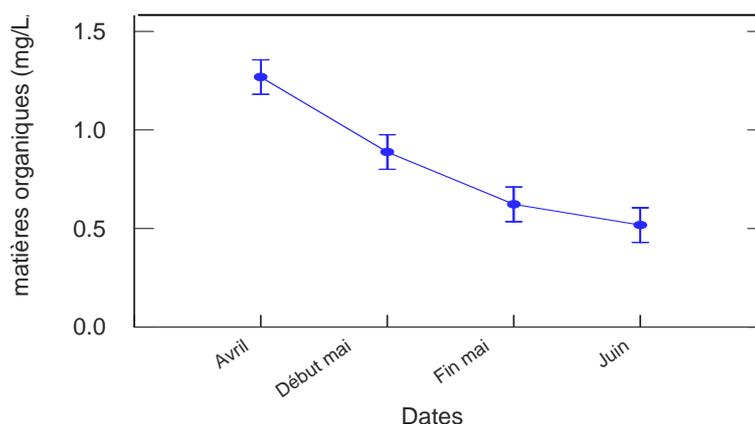


Figure 32 : Evolution des matières organiques sur l'ensemble des stations

Si on compare ces résultats avec ceux de la chlorophylle *a*, on constate qu'entre avril et début mai, la biomasse organique totale diminue tandis que la biomasse algale (chlorophylle *a*) augmente sensiblement. Par conséquent, on peut donc en déduire que sur cette période, la composante non algale (champignons, bactéries, nématodes) baisse très fortement, la colonisation des substrats artificiels étant en majorité le fait des algues.

Ce paradoxe peut certainement s'expliquer par le fait qu'à cette époque, des produits fongicides et nématicides sont massivement appliqués sur les cultures de céréales à paille alors que les traitements massifs d'herbicides (pré et post-levée maïs) n'ont pas encore eu lieu.

Entre début mai et juin la biomasse organique totale continue de diminuer. Or on a vu qu'à cette période la biomasse algale diminuait également. Une première hypothèse serait d'expliquer cette situation par de nouvelles expositions des biofilms à des fongicides et des nématicides associés aux herbicides, apportés par les traitements intensifs de début mai. Entraînés dans les cours d'eau par les eaux de pluie, ces molécules auraient, du fait de leur toxicité, perturbé la colonisation des substrats, par l'ensemble des organismes vivants.

Selon une seconde hypothèse, la baisse des organismes vivants non chlorophylliens au sein des biofilms, pourrait être liée à une érosion des substrats par les crues qui ont eu lieu mi-avril et mi-mai. La colonisation par l'ensemble des organismes continue cependant de baisser en juin tandis que les débits sont revenus à leur niveau normal. Les traitements n'étant pas terminés à cette période, il se pourrait donc que la diminution de la colonisation des substrats soit plutôt liée à la présence de pesticides dans les cours d'eau.

Comme pour le paramètre chlorophylle *a*, le calcul des corrélations a été effectué (annexe 5) et n'a montré aucune relation entre ce paramètre biologique et les paramètres abiotiques.

Dans la partie suivante nous allons regarder l'évolution des densités de diatomées.

c. Evaluation des densités de diatomées sur les substrats artificiels

Les densités des diatomées au sein des biofilms ont été évaluées grâce à des comptages effectués sur une cellule de Nageotte. Nous avons représenté sous forme d'histogramme les différentes densités mesurées au niveau de chaque station des trois cours d'eau et à chaque période de prélèvement.

Le Sousson

On remarque tout d'abord que les densités totales de diatomées augmente de l'amont (Aujan) vers l'aval du cours d'eau (Auch) et ceci à chaque période de prélèvement. Au cours du temps, on note une diminution des densités sur chaque station d'avril à fin mai. Puis elles augmentent légèrement en juin sur la station aval, Auch tandis qu'elles restent stationnaires sur Aujan et Dareous. En ce qui concerne la proportion des cellules avec plastes (vivantes) et sans plastes (mortes), on peut voir que les diatomées vivantes sont plus nombreuses tout au long de l'étude avec toutefois des proportions assez proches en avril.

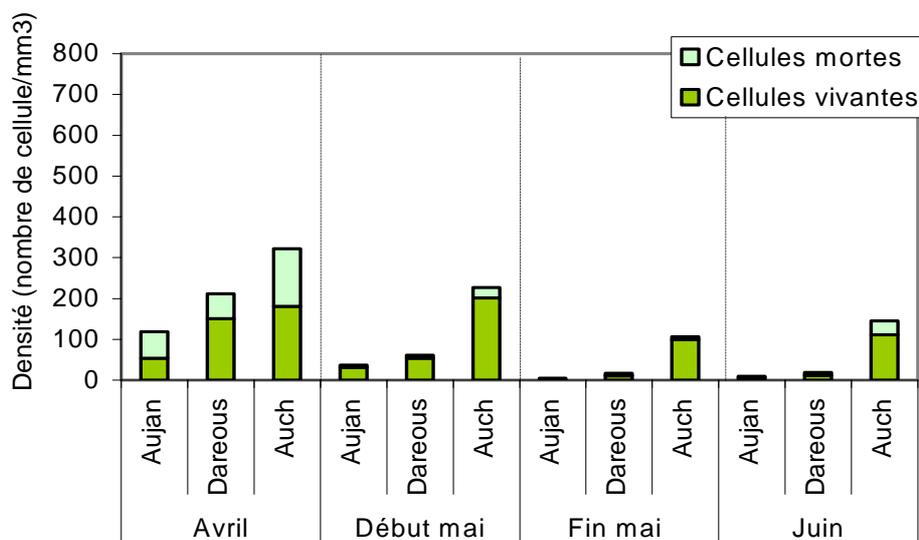


Figure 33 : Evolution des densités de diatomées sur le Sousson aux périodes de prélèvements

La Save

Comme pour le Sousson on remarque que les densités des quatre stations diminuent jusqu'à fin mai. En juin, elles n'évoluent pas sur les stations les plus en amont de la Save (Gorges et Anan) mais réaugmentent légèrement sur Espaon et Cazaux, les stations aval. Sur toute la durée de l'expérimentation, les densités des cellules vivantes sont supérieures à celles des cellules mortes sur l'ensemble des stations.

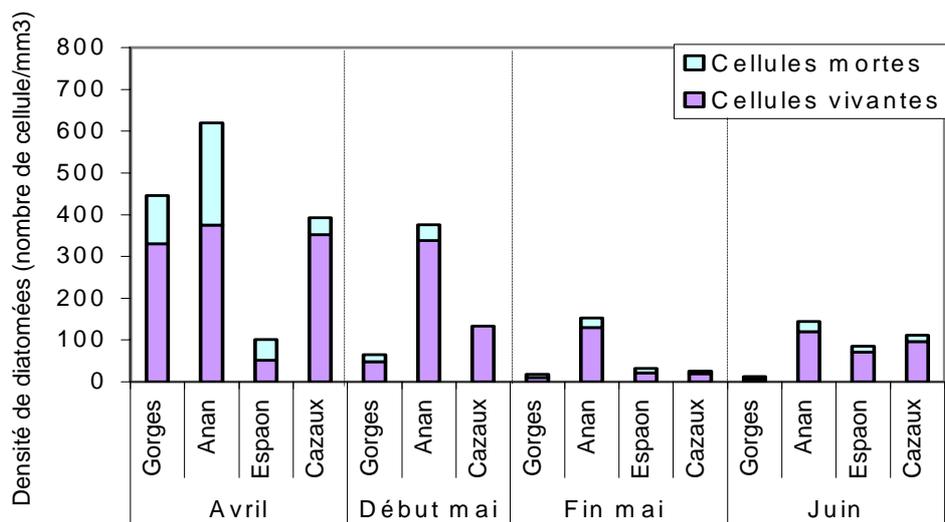


Figure 34 : Evolution des densités de diatomées le long de la Save au cours du temps

LeTouch

De façon identique aux autres cours d'eau, on note également une baisse des densités totales au cours du temps. Cette baisse est cependant plus rapide puisque dès le début du mois mai les densités sont très faibles et restent relativement basses jusqu'à la fin de l'expérimentation. Les diatomées vivantes sont également beaucoup plus abondantes que les mortes sur l'ensemble des stations et sur toute la durée de l'expérience. On note que les plus fortes densités se retrouvent sur Lamasquère à chaque date de prélèvement.

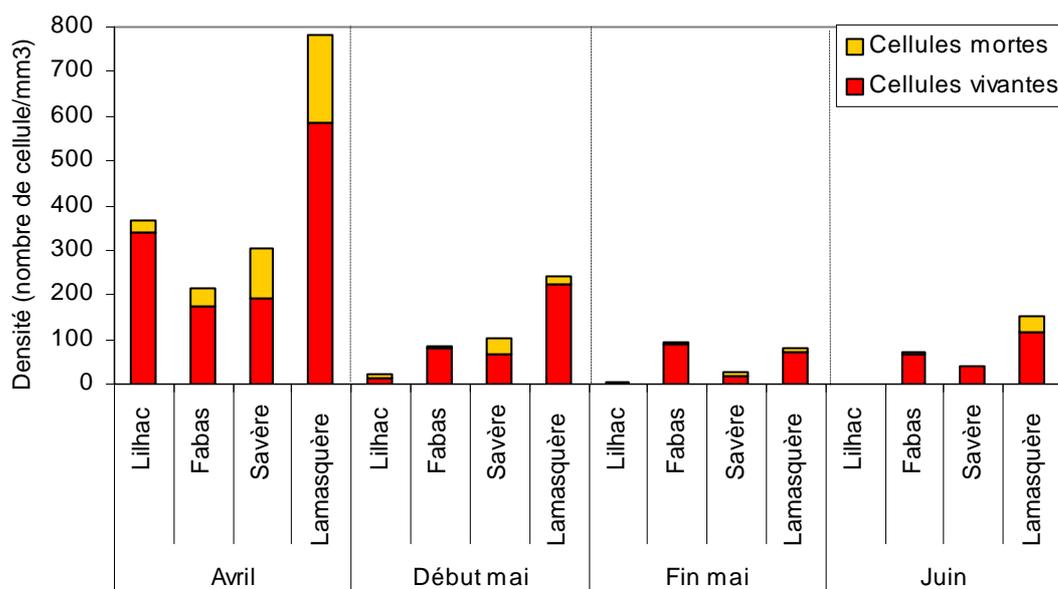


Figure 35 : Evolution des densités de diatomées sur le Touch aux périodes de prélèvements

Interprétations des résultats

Sur les trois continuums, les densités de diatomées diminuent du mois d'avril à fin mai puis elles se stabilisent au mois de juin, sur la majorité des stations tandis qu'elles remontent légèrement sur certaines. L'analyse de variance a montré que la baisse des densités au cours du temps était significative ($P = 0 < 0.05$).

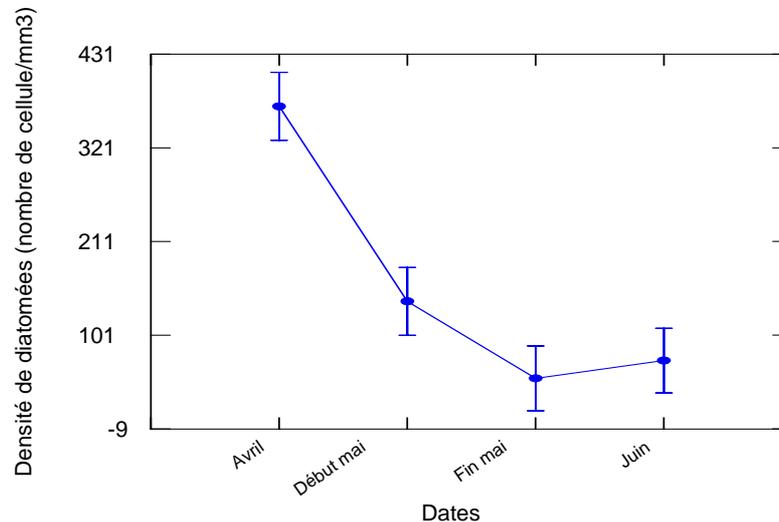


Figure 36 : Evolution des densités de diatomées benthiques sur l'ensemble des stations

L'évolution des densités rejoint celle de la biomasse organique totale qui diminuent tout au long de l'expérimentation.

Si on compare ces résultats avec ceux de la chlorophylle *a* on peut voir que contrairement à la biomasse algale totale, les diatomées diminuent fortement entre avril et début mai. On peut donc en déduire que l'augmentation de la biomasse algale, observée début mai, n'est pas liée à une augmentation des diatomées mais certainement à celle d'autres espèces algales telle que les algues vertes.

Les mêmes hypothèses, évoquées pour les paramètres précédents, peuvent être émises pour tenter d'expliquer cette observation. Selon la première, la diminution observée pourrait être liée à un phénomène d'érosion des lames de verre provoquée par les crues de mi-avril et mi-mai. La seconde hypothèse relierait cette baisse à une exposition des diatomées aux produits phytosanitaires présents dans les cours d'eau.

Cependant si la diminution des diatomées ainsi que celle de la biomasse organique totale étaient liée à l'érosion des substrats, on peut penser que les algues vertes auraient également disparues. Cette remarque est d'autant plus renforcée par le fait qu'elles sont moins liées au substrat que les diatomées et les bactéries qui ont une position pionnière au sein des biofilms.

Il semblerait donc que la diminution des diatomées observée soit plutôt à mettre en relation avec la présence de pesticides dans les cours d'eau.

Bilan sur la colonisation des substrats artificiels

L'hypothèse selon laquelle une érosion des substrats par les crues expliquerait les diminutions des organismes vivants observées s'avère peu probable puisqu'on a vu que certaines communautés algales n'étaient pas touchées par ce phénomène malgré leur position superficielle au sein des biofilms.

A partir du mois d'avril, les traitements commencent et nos analyses de chimie ont mis en évidence la présence d'herbicides dans les cours d'eau. Il se peut donc que certains organismes vivants

soient affectés par la présence de ces molécules toxiques d'où leur faible présence au sein des biofilms. A l'inverse, certaines espèces algales tolérantes se développent sur les substrats, au dépend des espèces les plus sensibles.

Les communautés de diatomées benthiques pour leur part, semblent être perturbées puisque leur densité au sein des biofilms devient de plus en plus faible au fur et à mesure de l'intensification des traitements agricoles. Si les pesticides agricoles trouvés dans l'eau sont à l'origine de ces perturbations, les diatomées apparaissent alors comme plus sensibles aux herbicides que certaines espèces algales.

A partir du mois de mai, l'intensification des traitements pourrait expliquer la diminution générale des organismes, observée au sein des biofilms. Les espèces les plus tolérantes en début d'expérimentation auraient également été affectées ne pouvant résister à une trop importante pression de pollution par les pesticides.

Dans une seconde partie nous allons étudier certains descripteurs propres aux diatomées.

2. Etude des paramètres qualitatifs des diatomées benthiques

Nous regarderons tout d'abord comment évoluent les formes anormales de diatomées, descripteurs qui s'est auparavant montré intéressant pour évaluer l'état de santé des écosystèmes aquatiques, et auquel aucune étude ne s'est encore intéressée pour la mise en évidence des pollutions par les pesticides agricoles. La diversité des populations de diatomées sera ensuite étudiée afin de regarder l'évolution du nombre d'espèce de diatomées au sein des biofilms au fur et à mesure des pressions agricoles croissantes.

Les comptages de fin mai et de juin étant en cours de réalisation, l'étude des descripteurs n'a pu être réalisée que pour avril et début mai. Dans cette partie, nous présenterons les premiers résultats obtenus afin d'établir un premier bilan de prise en compte de ces paramètres.

a. Résultats et étude du descripteur formes anormales

Dans un premier temps nous avons étudié les abondances relatives moyennes des formes anormales (FA) pour chaque continuum entre avril et début mai.

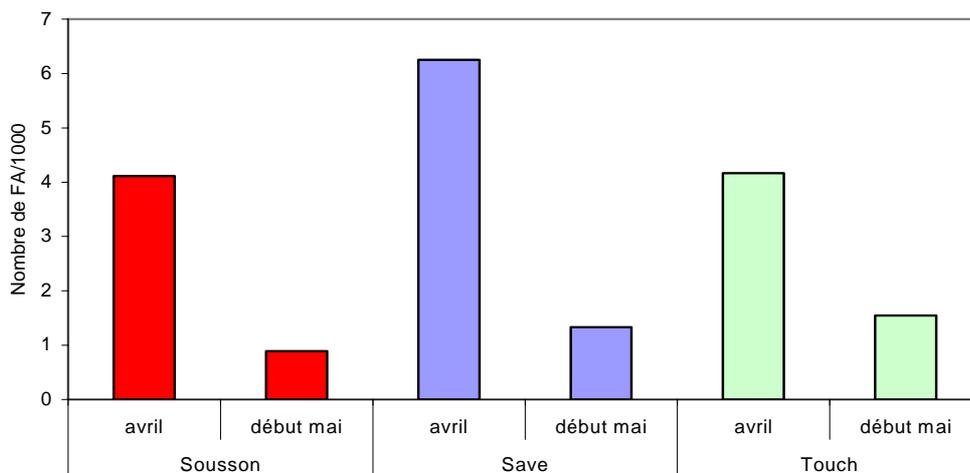


Figure 37 : Abondances relatives des formes anormales cumulées pour les substrats artificiels

Sur les trois cours d'eau, une diminution du nombre de formes anormales est observée entre avril et début mai

En attendant les prochains résultats et afin d'avoir une idée sur l'évolution des FA sur les substrats artificiels pour la suite de l'expérimentation, nous avons regardé les abondances relatives obtenues, fin mai, sur les substrats naturels dont les comptages ont été réalisés.

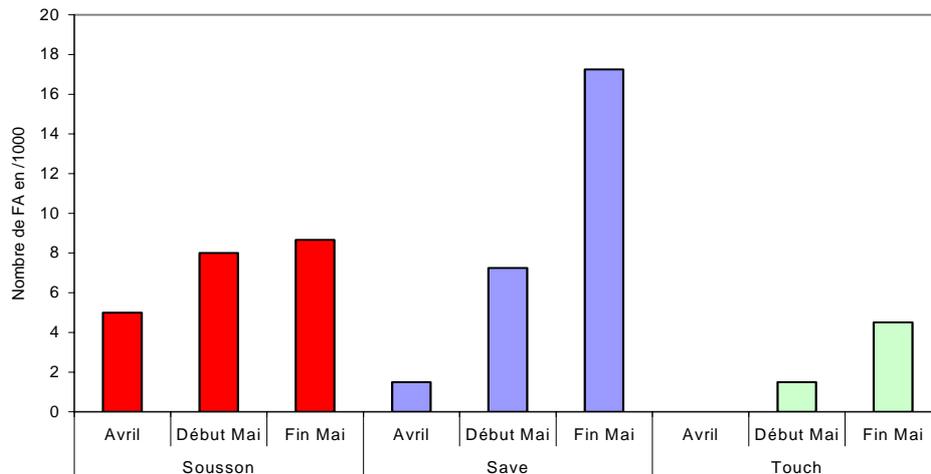


Figure 38 : Abondance relative des formes anormales cumulées pour les substrats naturels

A l'inverse des substrats artificiels, les abondances relatives de FA augmentent entre avril et début mai, et cette élévation se poursuit fin mai.

Afin de déterminer si une ou plusieurs espèces étaient majoritaires, la répartition des espèces de formes anormales (FA) sur les substrats artificiels a également été étudiée pour avril et début mai (annexe 7 : noms correspondants aux abréviations utilisées).

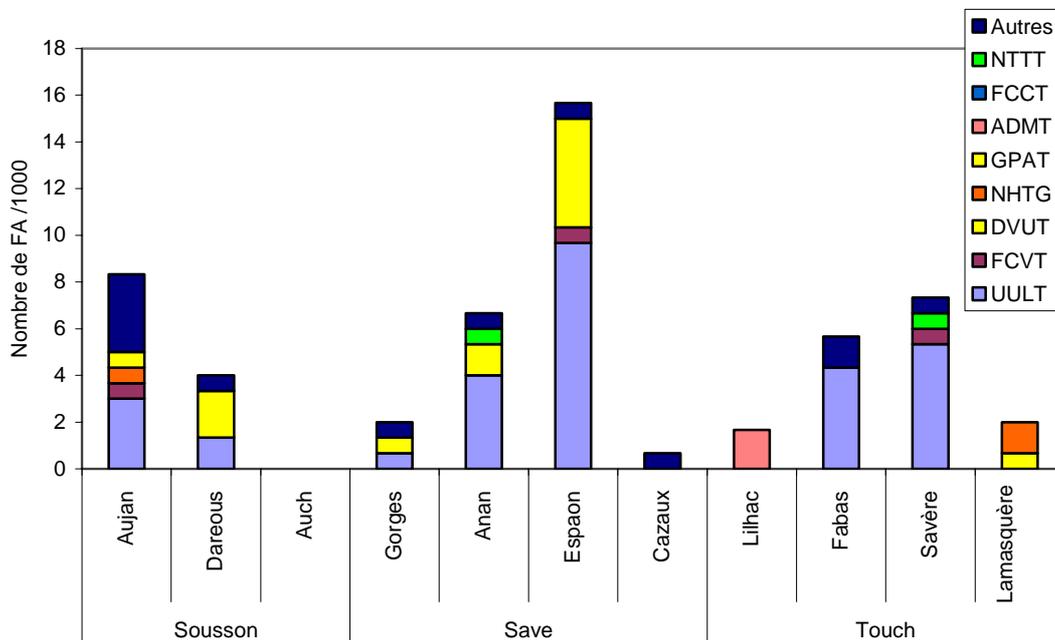


Figure 39 : Répartition des formes anormales sur l'ensemble des stations début mai

Les résultats du mois d'avril sont représentés dans le graphique suivant :

Les espèces les plus représentées sont *Ulnaria ulna* (UULT) (en bleu) et *Diatoma vulgaris* (DVUT) (en jaune) que l'on retrouve sur la majorité des stations

Les résultats de début mai sont présentés dans le graphique ci dessous :

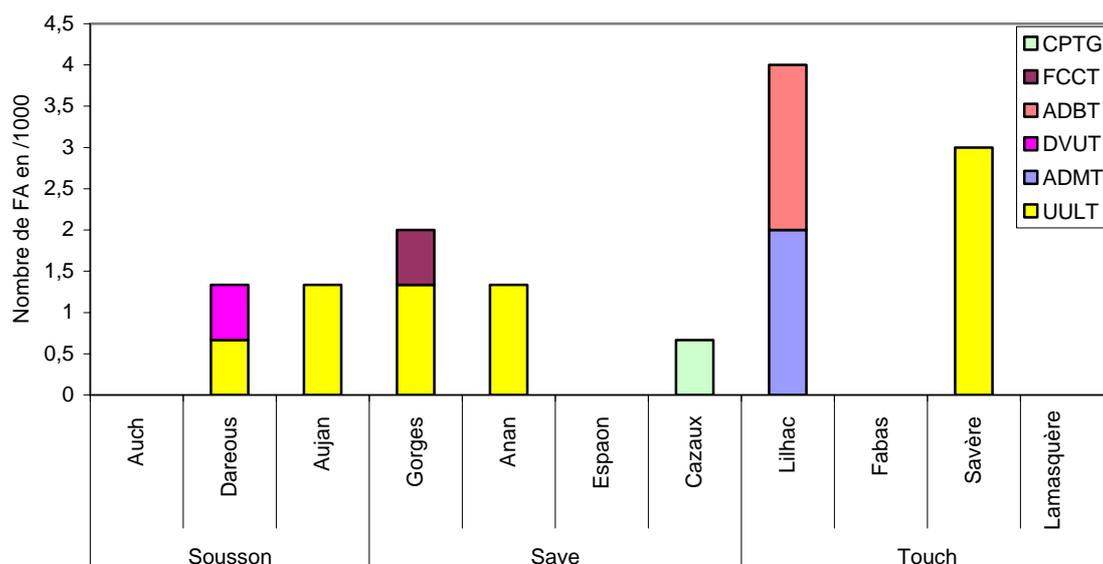


Figure 40 : Répartition des formes anormales sur l'ensemble des stations début mai

La diversité des espèces de formes anormales est faible sur l'ensemble des stations et l'espèce majoritaire reste *Ulnaria ulna* (UULT).

Bilan

Il est assez difficile d'interpréter les résultats puisqu'il nous manque ceux de fin mai et de juin. Les données obtenues pour les substrats naturels sont très différentes de celles des substrats artificiels puisque entre avril et début mai, les FA sur substrats artificiels diminuent tandis que, sur les substrats naturels, elles ont tendance à augmenter. On peut donc difficilement prévoir l'évolution du nombre de FA sur les substrats artificiels pour la suite de l'expérimentation en se basant sur les résultats des substrats naturels.

Nous avons calculé les corrélations du nombre de FA avec les paramètres abiotiques (annexe 4) pour les mois d'avril et de mai et aucune corrélation significative n'a pu être établie.

Dans la partie suivante nous avons étudié la diversité des populations de diatomées au sein des biofilms.

b. Etude de la diversité des populations de diatomées benthiques

La diversité des populations a été calculée grâce au logiciel Omnidia, selon l'indice de diversité de Shannon. Les principales observations relevées pour chaque continuum sont les suivantes :

Sur la Save :

- ❖ Les diversités sont identiques sur l'ensemble des stations en avril.
- ❖ Elles n'évoluent pas début mai à l'exception de celle de la station aval qui diminue.

Sur le Sousson :

- ❖ Les diversités évoluent de façon identique à celle de la Save : elles sont similaires en avril et restent constantes début mai sauf sur Auch, la station aval, où elles diminuent.

Sur le Touch :

- ❖ En avril, la diversité des populations augmente de l'amont vers l'aval.
- ❖ Comme sur les autres cours d'eau, la diversité diminue en aval début mai.

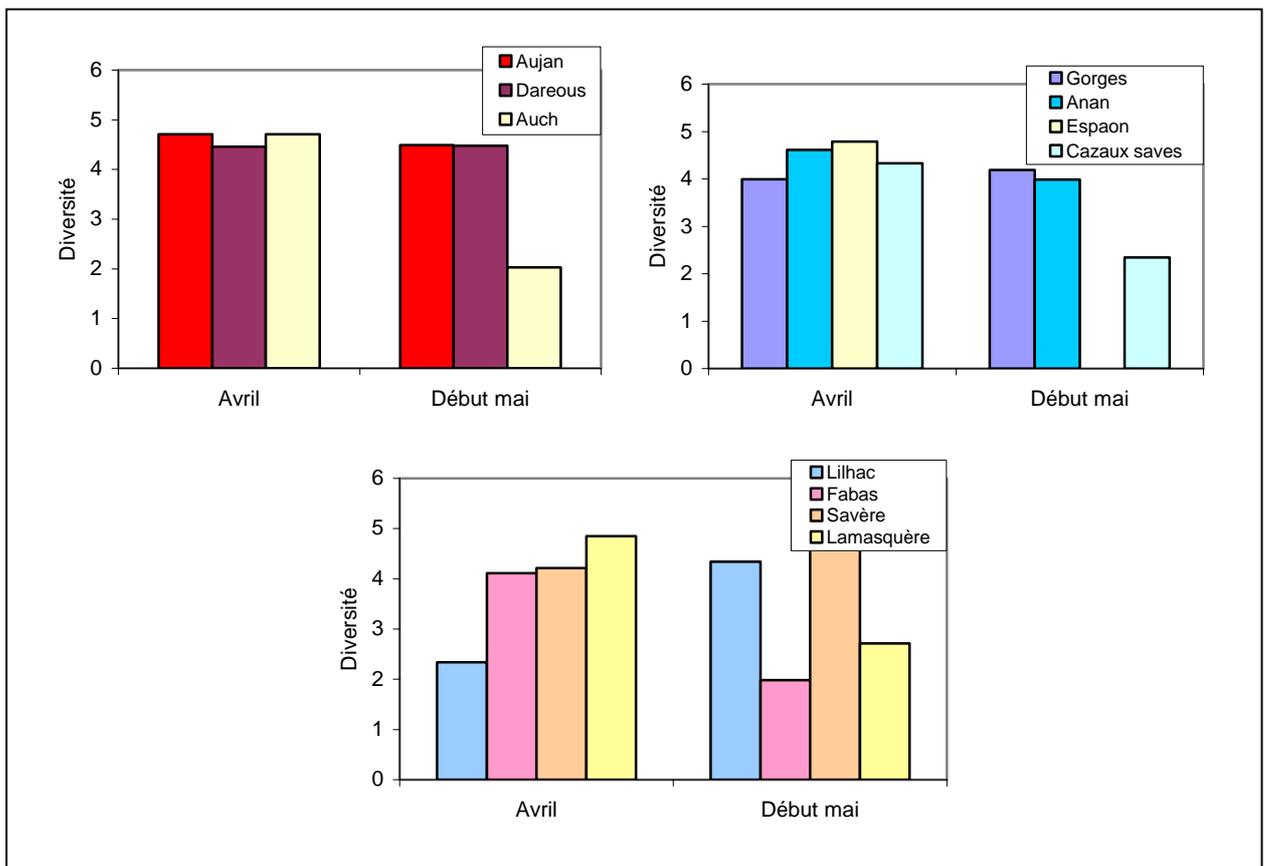


Figure 41 : Evolution des diversités de Shannon entre avril et début mai sur le Sousson , la Save et le Touch

Interprétation des résultats

A travers l'étude des graphiques montrant l'évolution de la diversité entre avril et début mai, on a pu constater qu'elle avait tendance à diminuer début mai notamment sur les stations avals des trois cours d'eau.

Une analyse de variance a été effectuée afin de vérifier cette observation. Il est apparu que les valeurs de diversité diminuaient de façon significative ($P = 0.001 < 0.05$) entre avril et début mai.

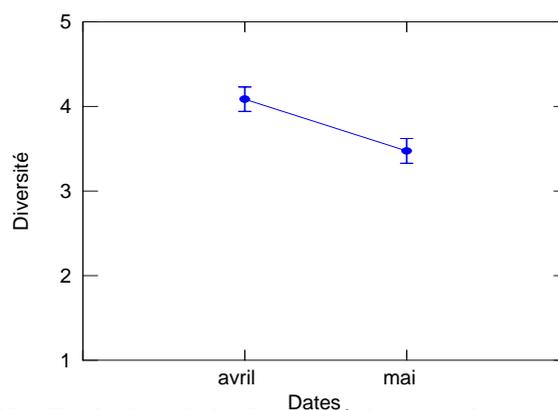


Figure 42 : Evolution de la diversité des populations de diatomées sur l'ensemble des stations

On a vu qu'à partir du mois d'avril, les traitements sur les cultures commençaient et que, d'après nos analyses de chimie, plusieurs molécules s'étaient retrouvées dans les cours d'eau ce qui pourrait expliquer la diminution de la diversité observée début mai. Les espèces les plus sensibles à la présence de ces molécules toxiques auraient disparues ne laissant, au sein des biofilms, que les espèces les plus tolérantes.

Le calcul des corrélations (annexe 4) n'a cependant montré aucune corrélation de la diversité avec les paramètres abiotiques.

Partie F : Bilan et discussion

Grâce aux analyses de chimie, nous avons pu mettre en évidence la présence de molécules herbicides dans les trois cours d'eau étudiés dès le début de l'expérimentation. Cependant, les analyses ayant été effectuées seulement en début et en fin de colonisation, c'est à dire toutes les trois semaines, il est assez difficile de connaître avec précision ce qu'il se passe au cours de cette période. Malgré l'impossibilité de connaître avec exactitude l'ensemble des molécules présentes tout au long de l'expérimentation (du fait de prélèvements ponctuels), ainsi que leurs concentrations, nous avons pu constater une diversification des molécules, à partir de début mai, traduisant une intensification des traitements sur les cultures.

Il serait intéressant de pouvoir multiplier les analyses de chimie afin d'obtenir une information plus fine concernant l'ambiance chimique des eaux qui règne tout au long de l'expérimentation.. Mais le coût relativement important de ces analyses rend cela difficile. De plus augmenter les analyses de chimie reviendraient à augmenter les sorties sur le terrain pour effectuer les prélèvements ce qui demanderait énormément de temps étant donné l'éloignement du site d'étude. Une solution serait de réduire le nombre de site et d'augmenter la fréquence des prélèvements ce qui maintiendrait le nombre d'analyses effectuées en laboratoire à des niveaux acceptables.

Les paramètres concernant la colonisation du biofilm sur les substrat artificiels : chlorophylle *a*, matière organique et densité de diatomées se sont révélés être assez intéressants. Une diminution progressive des organismes vivants au sein des biofilms a pu être mise en évidence au fur et à mesure de l'intensification de la pression agricole. Les résultats de chlorophylle *a* ont également fait part de la persistance de certaines populations algales début mai quand tous les autres organismes vivants semblaient disparaître au sein des biofilms. L'évaluation des densités de diatomées a permis de voir que cette résistance ne concernait pas les diatomées qui diminuent fortement début mai.

Si les pesticides sont la cause de la disparition des organismes vivants au sein des biofilms il semblerait donc que les diatomées aient une plus grande sensibilité à ces molécules toxiques par rapport à d'autres populations algales. Nous devons rester prudent quant à cette hypothèse car, d'après la bibliographie, les diatomées se situeraient parmi les espèces algales les moins sensibles aux herbicides.

Les résultats concernant les abondances relatives des formes anormales de diatomées nous ont permis de distinguer une espèce dominante en avril et début mai : *Ulnaria ulna*. La comparaison des résultats sur substrat artificiels et naturels nous a montré une évolution opposée du nombre de formes anormales dans le temps. Cette comparaison est cependant assez difficile car il faut savoir que la période d'intégration des substrats naturels est plus longue que celle des substrats artificiels et il nous est impossible de savoir depuis combien de temps les biofilms naturels sont en place. Il se peut donc que les résultats sur substrats naturels reflètent des pollutions plus anciennes, peut être des années précédentes. Dans ce cadre, un des objectifs du travail de l'étude est de pouvoir passer outre cette variabilité liée au temps d'intégration sur substrat naturel. En effet d'un point de vue méthodologique le dispositif expérimental actuellement utilisé est relativement contraignant à mettre en place et l'objectif de l'étude, à terme, est de révéler les pollutions par les toxiques tout en pouvant prélever les diatomées sur les substrats naturels. Il sera donc nécessaire de trouver un outil simple d'utilisation applicable sur un vaste réseau de surveillance permettant de révéler des pollutions récentes à partir de l'étude des populations développés sur des galets en rivières.

D'autre part, les formes anormales sont présentes en très faible quantité, leur pourcentage ne dépassent pas 2 % sur les substrats artificiels ce qui est peu représentatif des éventuels impacts des pesticides sur les populations. Il faut également savoir que la bibliographie avait déjà révélé une grande variabilité intra-stationnelle (Debenest 2004) de ce descripteur ce qui rend son interprétation assez difficile.

L'utilisation de ce descripteur pour la révélation des pollutions par les pesticides apparaît donc, à l'heure actuelle, peu aisée. Malgré tout, notre analyse ne pourra être affinée que lorsque nous obtiendrons les derniers résultats de fin mai et juin.

Les premiers résultats concernant la diversité des populations de diatomées nous indiquent une diminution entre avril et début mai. Il est difficile d'interpréter cette diminution car de nombreux paramètres abiotiques tels que les débits, la luminosité, peuvent influencer sur la diversité des populations. Elle concorde toutefois avec le début des traitements sur les cultures. Comme pour les formes anormales nous ne pourrions conclure que lorsque tous les résultats seront obtenus.

Malgré les observations relativement intéressantes faites sur les paramètres biologiques, les calculs de corrélations n'ont permis de relier aucune de ces variables avec les concentrations en pesticides.

Cependant il est à rappeler que nos données de chimie sont issues de prélèvements ponctuels et ne peuvent fournir une évaluation intégrée de l'exposition à des molécules herbicides contrairement aux paramètres biologiques qui offrent, eux, une estimation intégrée du développement des organismes vivants au sein des biofilms. De ce fait, leur mise en relation à travers de calcul de corrélations reste donc délicat.

Conclusion

L'étude des paramètres quantitatifs a permis de constater une perturbation de la colonisation des substrats artificiels parallèlement à l'intensification des pratiques agricoles. Dans l'hypothèse où la diminution progressive observée du nombre d'organismes vivants serait liée à une exposition aux pesticides, il apparaît que certaines populations algales sont plus résistantes que les diatomées.

Par conséquent, la chlorophylle *a*, les matières organiques et les densités de diatomées se révèlent être des paramètres relativement intéressants pour mettre en évidence de possibles impacts des pesticides.

En ce qui concerne les paramètres qualitatifs des populations de diatomées, très peu d'observations ont pu être faites en raison du manque des résultats pour la fin de l'expérimentation (fin mai et juin). Cependant, les premières données relatives à la diversité des populations semblent prometteuses puisqu'elles indiquent une diminution de celle-ci parallèlement au début des traitements agricoles. Concernant le critère d'abondance relative des formes anormales, de nombreux biais ont été révélés quant à son utilisation pour la révélation des pollutions agricoles. Le faible pourcentage des formes anormales au sein des populations ainsi que la forte variabilité de ce descripteur rendent l'interprétation des résultats assez difficile. L'analyse fine et complète de ces paramètres ne pourra être effectuée qu'après l'obtention de la totalité des résultats.

D'autres paramètres propres aux diatomées sont en cours d'analyse. Des études antérieures ont montré que les grandes espèces de diatomées présentaient une plus grande sensibilité à certaines pollutions par rapport aux petites espèces, plus intimement imbriquées au biofilm. Connaissant le volume théorique de chaque espèce, l'étude de la répartition des espèces selon leur taille est actuellement en cours de réalisation. Il est également prévu d'étudier plus précisément les populations de diatomées en analysant la répartition de certaines espèces le long des gradients de pollutions.

Dans la continuité de ce travail, une expérimentation en canaux artificiels est prévue pour l'année 2006. Une information plus fine pourra être obtenue quant à l'intérêt des paramètres biologiques étudiés pour la révélation des pollutions par les pesticides. Contrairement à l'expérimentation *in situ* elle permettra de travailler en conditions contrôlées et de maîtriser un grand nombre de paramètres abiotiques tels que la luminosité, la température, les débits qui peuvent interférer avec l'impact des pesticides.

Bibliographie

- AFNOR (1999). "Qualité de l'eau. Dosage de la chlorophylle a et d'un indice phéopigments-Normes NF T 90-117." 10.
- AFNOR (2000). "Qualité de l'Eau. Détermination de l'indice biologique diatomées (IBD) - Norme NF T90-354 -." 65.
- AFNOR (2003). "Qualité de l'Eau. Guide pour l'échantillonnage en routine et le pré-traitement des diatomées benthiques de rivières - Norme NF EN 13946." 16.
- Atkins, C. A. and Y. T. Tchan (1967). "Study of soil algae VI. Bioessay of atrazine and the prediction of its toxicity in soils using an algal growth method." Plant Soil **27**: 432-442.
- Berard, A. (1996). "Effect of organic four solvents on natural phytoplankton assemblages: Consequences for ecotoxicological experiments on herbicides." Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology **57**(2): 183-190.
- Bérard, A. and Pelte (1999). "Les herbicides inhibiteurs du photo-système II, effets sur les communautés algales et leur dynamique." Revue des Sciences de l'eau **12**(2): 333-361.
- Berard, A. and T. Pelte (1996). "Effets de l'atrazine sur l'évolution des peuplements phytoplanctoniques lacustres-Etudes en enceinte expérimentales *in situ*." Ecologie **27**(4): 195-201.
- Bertrand, J. (1999). "Mouvements des diatomées VI. Les efforts pendant le déplacement apical. Mesures, analyses, relations : longueur, vitesse, force." Cryptog Algal **20**(1): 43-57.
- Bester, K., H. Huhnerfuss, et al. (1995). "Biological effects of triazine herbicide contamination on marine phytoplankton." Arch. Environ. Contam. Toxicol. **29**(277-283).
- Bourrelly, P. (1981). LES ALGUES D'EAU DOUCE Initiation à la systématique
Tome II: Les Algues jaunes. Paris, Société Nouvelle des Editions Boubée.
- Coste, M., C. Bosca, et al. (1991). Use of algae for monitoring rivers in France. Use of Algae for monitoring rivers, Dusseldorf, ROTT, E., Innsbruck.
- Dahl, B. and H. Blanck (1996). "Pollution-induced community tolerance (PICT) in periphyton communities established under tri-n-butyltin (TBT) stress in marine microcosms." Aquatic Toxicology **34**(4): 305-325.
- De Noyelles, F., W. Dean Kettle, et al. (1982). "The response of plankton communities in experimental ponds to atrazine, the most heavily used pesticide in the United States." Ecology **63**: 1285-1293.
- De Noyelles, F., W. Dean Kettle, et al. (1992). "The reponse of plankton communities in experimental ponds to atrazine, the most heavily used pesticides in the United States." Ecology **63**: 1285-1293.

- Debenest, T. (2004). Caractérisation de descripteurs globaux phénotypiques simples et pertinents de l'impact de pollutions polymétalliques (Cd et Zn) sur les phytocénoses de diatomées benthiques. Toulouse, Institut National d'Horticulture INH- Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Toulouse ENSAT: 71p + annexes.
- Druart, J. C., S. Kofman, et al. (1997). "Le porc, modèle pour l'étude des diatomées dans le diagnostic de la noyade humaine : premiers résultats. In : Compte-rendu du 15ème colloque de l'Association des Diatomistes de Langues Française . Strasbourg." Cryptogamie, Algol **18**: 82-83.
- Ducret, J. M. (1991). "Les herbicides inhibiteurs du photosystème II. in "Les herbicides, mode d'action et principes d'utilisation"." INRA (ed): 79-114.
- Edlund, M. B. and E. F. Stoemer (1997). "Ecological, evolutionary and systematic significance of diatom life histories." Journal of Phycology **33**(6): 897-918.
- El-Dib, M. A., S. A. Shehata, et al. (1989). "Response of freshwater alga *Scenedesmus* to triazine herbicides." Water, Air, and Soil Pollution **48**(307-316).
- Goldsborough, L. G. and G. G. C. Robinson (1986). "Changes in periphytic algal community structure as a consequence of short herbicide exposures." Hydrobiologia(139): 177-192.
- Guasch, H. and S. Sabater (1998). "Light history influences the sensitivity to atrazine in periphytic algae." Journal of Phycology **34**(2): 233-241.
- Hatakeyama, S., F. S., et al. (1994). "Assessment of herbicides effects on algal production in the Kokai river (Japan) using a model stream and *Selenastrum* bioessay." Ecotoxicology **3**: 143-156.
- Hoagland, K. D., R. W. Drenner, et al. (1993). "Freshwater community responses to mixtures of agricultural pesticides : effects of atrazine and bifenthrin." Environm. Toxicol. Chemi **12**: 627-637.
- Hoffman, K. D., G. Bills, et al. (1982). "An in situ comparison of the effectiveness of four algicides." Water Research Bull. **18**: 921-927.
- Jüttner, I., A. Peither, et al. (1995). "An outdoor mesocosm study to assess ecotoxicological effects of atrazine on a natural plankton community." Arch. Environ. Contam. Toxicol. **29**(435-441).
- Kasai, F. and T. Hanazato (1995). "Effects of the triazine herbicide, simetryn, on freshwater plankton communities in experimental ponds." Environmental Pollution **89**(2): 197-202.
- Kelly, M. G. and B. A. Whitton (1995). "The trophic Diatom Index: a new index for monitoring eutrophication in rivers." Journal of Applied Phycology **7**: 433-444.
- Krammer, K. and H. Lange-Bertalot, Eds. (1986 - 1991). Bacillariophyceae 1. Teil: Naviculaceae. 876 p.; 2 Teil : Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae, 596 p.; 3 Teil : Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae, 576 p.; 4 Teil : Achnanthaceae. Kritische Ergänzungen zu Navicula (Lineolatae) und Gomphonema. 437 p. Süßwasserflora von Mitteleuropa . Stuttgart., G. Fischer verlag.
- Lampert, W., W. Fleckner, et al. (1989). "Herbicide effects on planktonic systems of different complexity." Hydrobiologia **188/189**: 415-424.

- Lange-Bertalot, H. (1979). "Pollution tolerance of diatoms as a criterion for water quality estimation." Nova Hedwigia **64**: 285-304.
- Lecoq, C., M. Coste, et al. (1993). "Omnidia - Software for Taxonomy, Calculation of Diatom Indexes and Inventories Management." Hydrobiologia **269**: 509-513.
- Lenoir, A. and M. Coste (1995). Mise au point d'un indice diatomique pratique applicable au réseau National français., ETUDE INTER-AGENCES Cemagref Bordeaux: 90 pages + annexes.
- Ludes, B., M. COSTE, et al. (1995). "Le diagnostic de noyade par la recherche et l'identification des Diatomées : intérêt d'une extraction tissulaire par digestion enzymatique." Vie & Milieu (Life & Environment) **45**(3/4): 231-234.
- Molander, S. and H. Blanck (1992). "Detection of Pollution-Induced Community Tolerance (Pict) in Marine Periphyton Communities Established under Diuron Exposure." Aquatic Toxicology **22**(2): 129-144.
- Munoz, J. M. (1992). Les pesticides dans l'environnement. In "Méthodologie d'études des produits phytosanitaires, étude d'un bassin versant viticole : l'Ardière (Beaujolais). Mise au point de méthodes analytiques de pesticides. Th.Doct.Univ. Lyon I: 13-35.
- Nyström, B. A. (1997). Metabolic indicators of ecotoxicological effects in freshwater periphyton communities. Th.Doct.Univ. Göteborg: 26.
- Pelte, T. (1995). Effets de l'atrazine sur les peuplements phytoplanctoniques du lac Lemman, étude expérimentale appliquée aux successions saisonnières du phytoplancton. Thonon, INRA: 51 + annexes.
- 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*." Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences **56**(10): 1757-1765.
- Peterson, H. G., C. Boutin, et al. (1994). "Aquatic phyto-toxicity of 23 pesticides applied at expected environmental concentrations." Aquat. Toxi. **28**(275-292).
- Prygiel, J. and M. Coste (1993). "Utilisation des indices diatomiques pour la mesure de la qualité des eaux du bassin Artois-Picardie : bilan et perspectives." Annales de Limnologie **29**((3-4)): 255-267.
- Prygiel, J. and M. Coste (1995). "Les diatomées et le diagnostic de la qualité des eaux courantes continentales : les principales méthodes indiciaires." Vie et Milieu (Life & Environment) **45**(3/4): 179-186.
- Prygiel, J. and M. Coste (1998). "Mise au point de l'indice Biologique Diatomée, un indice diatomique pratique applicable au réseau hydrographique français." L'Eau l'Industrie, les Nuisances **211**: 40-45.
- Prygiel, J. and M. Coste, Eds. (2000). Guide Méthodologique pour la mise en oeuvre de l'Indice Biologique Diatomées NF T 90-354.
- Round, F. E., R.M. Crawford & D.G. Mann. (1990). The Diatoms. Biology & Morphology of the genera., Cambridge Univ.Press Ed.

- Rumeau, A. and M. Coste (1988). "Initiation à la systématique des Diatomées d'eau douce." Bull. Fr. Piscic. **309**: 69 p.
- Stay, F. S., A. Katko, et al. (1989). "The effects of atrazine on microcosms developed from four natural plankton communities." Arch. Environ. Contam. Toxicol **59**(631-637).
- Stevenson, R. J. and Y. Pan (1999). Assessing environmental conditions in rivers and streams with diatoms. The Diatoms - Applications for the Environmental and Earth Sciences. E. F. STOERMER and J. P. SMOL, Cambridge University Press.: 469 pp.
- Stratton, G. W. (1984). "Effects of the herbicide atrazine and its degradation products, alone and in combination, on phototrophic microorganisms." Arch. Environ. Contam. Toxicol. **13**(35-42).
- Ter Braak, C. J. F. and H. Van Dam (1989). "Inferring pH from Diatoms: a comparison of old and new calibration methods." Hydrobiologia **178**: 209-223.
- Van den Brink, P. J., E. M. Hartgers, et al. (1997). "Sensitivity of Macrophyte-Dominated Freshwater Microcosms to Chronic Levels of the Herbicide Linuron." Ecotoxicology and Environmental Safety **38**(1): 13-24.
- Van Den Hoek, C., D. G. Mann, et al. (1995). Algae - An introduction to phycology, Cambridge University Press.
- Werner, D. E., Ed. (1977). The Biology of Diatoms. Botanical Monographs 13. Botanical Monographs. Oxford., Blackwell Sci. Publ.

Sites Internet classés par thématique

- Diatomées

www.people.westminstercollege.edu/faculty/tharrison/emigration/diatoms.htm
www.dijon.inra.fr/thonon/phyto/druart/diatomees.htm

- Pesticides

www.agreste.agriculture.gouv.fr
www.perspectives-agricoles.com
www.e-phy.agriculture.gouv.fr

- Zone d'étude

www.gers.pref.gouv.fr/GERS

- Données hydrologiques

<http://www.hpgaronne.ecologie.gouv.fr>
<http://hydro.rnde.tm.fr>
<http://spdiren.coliane.fr/direnaq>

- Divers

<http://www.afnor.fr>
<http://www.eau-rhin-meuse.fr/sierm/stepu/Qualite>
<http://www.perspectives-agricoles.com>

Annexes

Annexe 1

Caractéristiques des stations étudiées

Annexe 2

Evolution des paramètres physico-chimiques sur la Save et le Touch

Annexe 3

Grille d'évaluation du Seq-eau

Annexe 4

Evolution des concentrations en PO₄ sur la Save et le Touch

Annexe 5

Résultats des dosages de pesticides et qualités des eaux

Annexe 6

Matrices des corrélations entre les paramètres biologiques et biotiques

Annexe 7

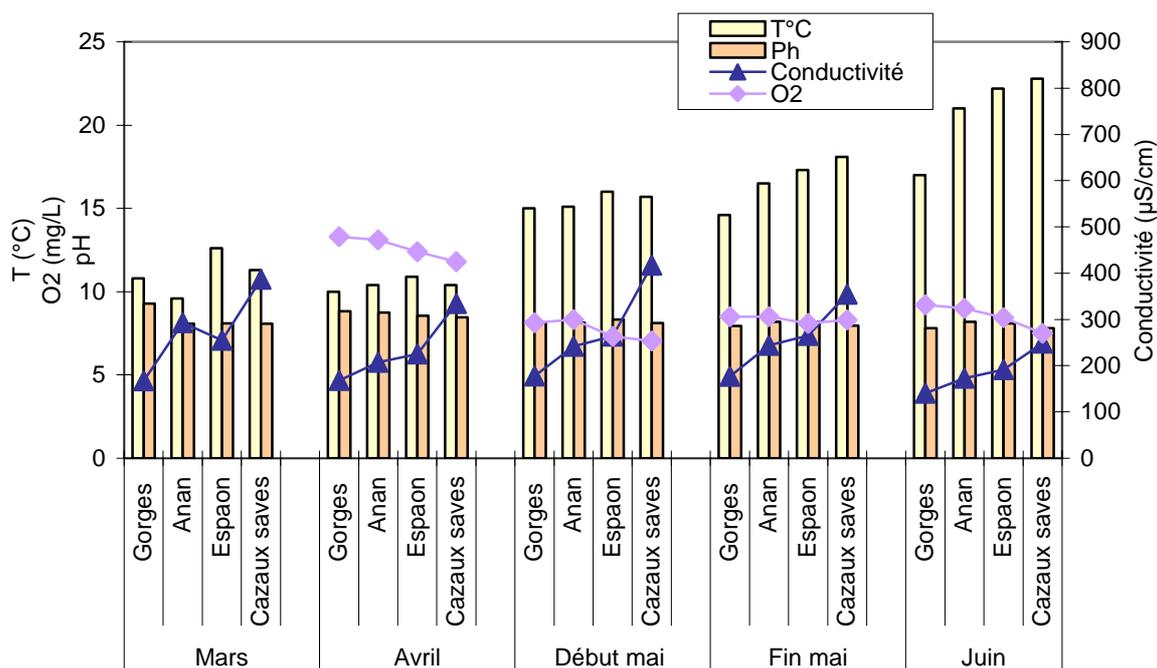
Abréviations utilisées pour nommer les formes anormales de diatomées

Annexe 1 : Caractéristiques des stations étudiées

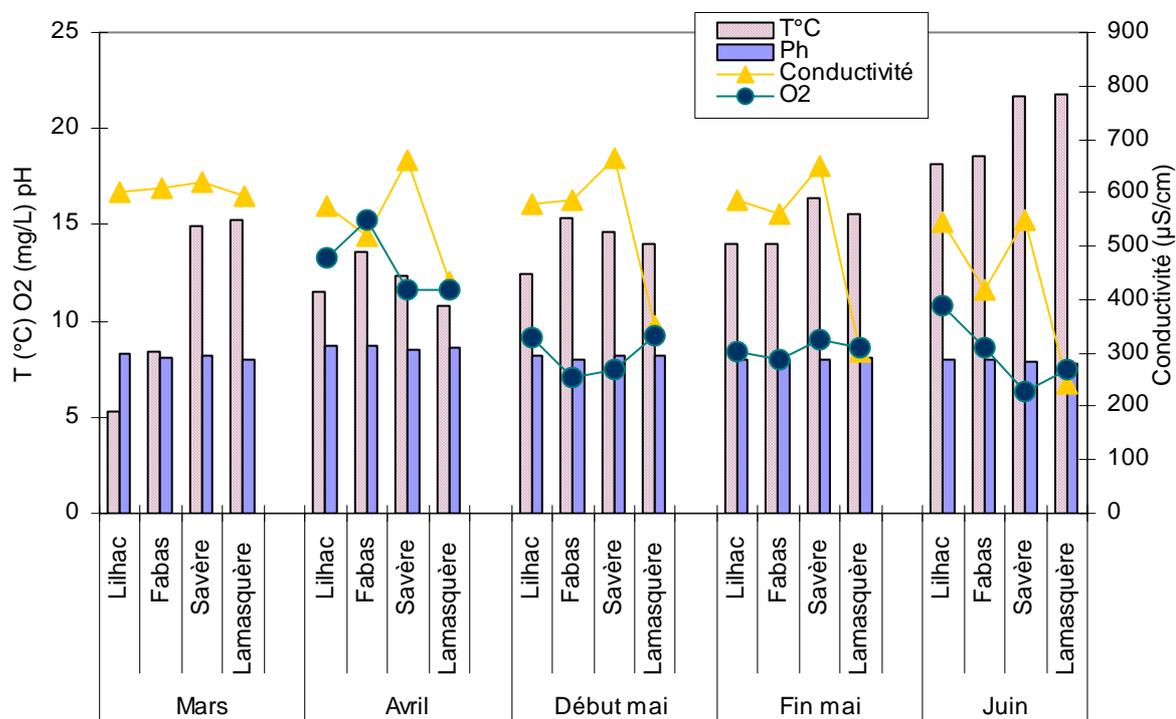
Les principales caractéristiques des sites de prélèvement sur les trois cours d'eau étudiés sont regroupées dans le tableau suivant :

Cours d'eau	Stations	Coordonnées Lambert	Distance à la source (Km)	Occupation du bassin versant	Nature des berges	Luminosité
Sousson	Aujan	X=0451.350 Y=1821.630	3.2	Agricole	Recalibrée	Faible
	Dareous	X=0453.515 Y=1832.938	16	Agricole	Recalibrée	Bonne
	Auch	X = 0.457475 Y =1847,138	32.38	Agricole	Recalibrée	Bonne
Save	Gorges	X=0462.995 Y=1804.443	31.65	Agricole	Naturelle	Faible
	Anan	X=0520.178 Y=1817.928	55.88	Agricole	Naturelle	Bonne
	Espaon	X: 479.970 Y: 1825.39	65.78	Agricole	Recalibrée	Bonne
	Cazaux saves	X= 0490.620 Y=1838.678	88.6	Agricole	Naturelle	Très bonne
Touch	Lilhac	X=0477.980 Y=1810.630	2.13	Agricole et forestière	Naturelle	Très faible
	Fabas	X=0482.795 Y=1814.210	8.55	Agricole	Recalibrée	Très bonne
	Savère	X=0500.840 Y=1818.85	28.25	Agricole	Recalibrée	Très bonne
	Lamasquère	X: 510.405 Y: 1832.94	48.95	Agricole	Recalibrée	Très bonne

Annexe 2 : Evolution des paramètres physico-chimiques sur la Save et le Touch



Evolution des paramètres physico-chimiques le long de la Save à chaque période de prélèvement



Evolution des paramètres physico-chimiques le long du Touch à chaque période de prélèvement

Annexe 3 : Grille d'évaluation du Seq-eau

<i>Classe de qualité</i> →	<i>Bleu</i>	<i>Vert</i>	<i>Jaune</i>	<i>Orange</i>	<i>Rouge</i>
<i>Indice de qualité</i> →	80	60	40	20	

1 - MOOX - MATIERES ORGANIQUES ET OXYDABLES

Oxygène dissous (mg/l)	8	6	4	3	
pH ¹¹	8,0	8,5	9,0	9,5	

3 - NITR – NITRATES

NO ₃ ⁻ (mg/l NO ₃)	2	10	25	50	
--	---	----	----	----	--

4 - PHOS - MATIERES PHOSPHOREES

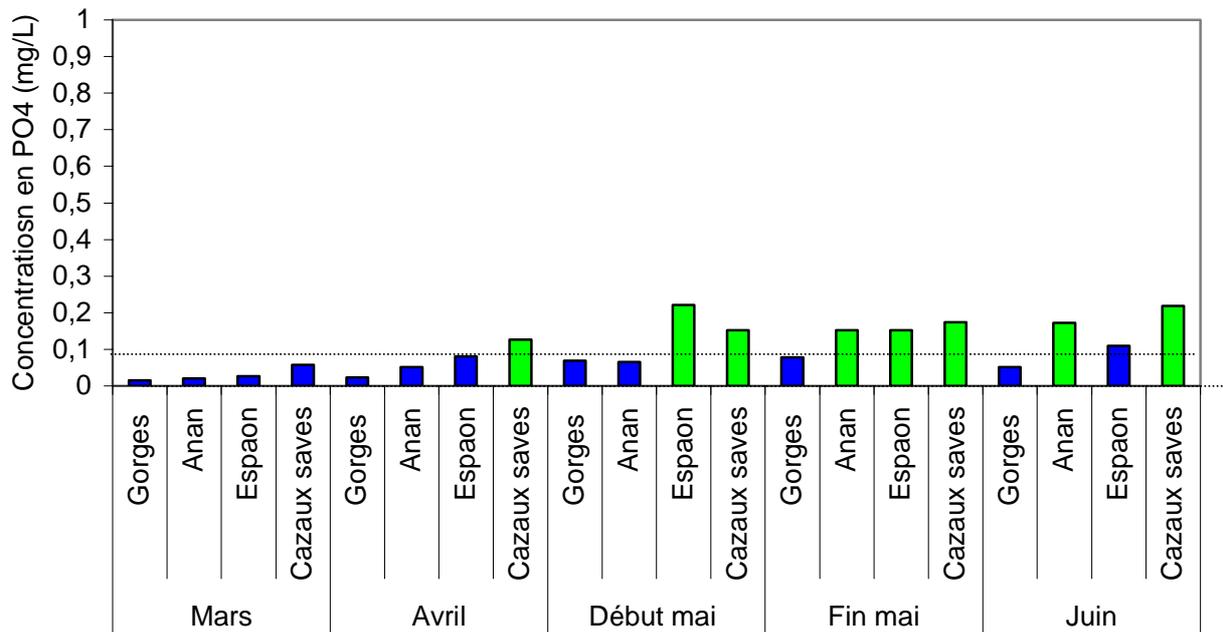
PO ₄ ³⁻ (mg/l PO ₄)	0,1	0,5	1	2	
---	-----	-----	---	---	--

13 – PEST - PESTICIDES SUR EAU BRUTE (unité : µg/l)

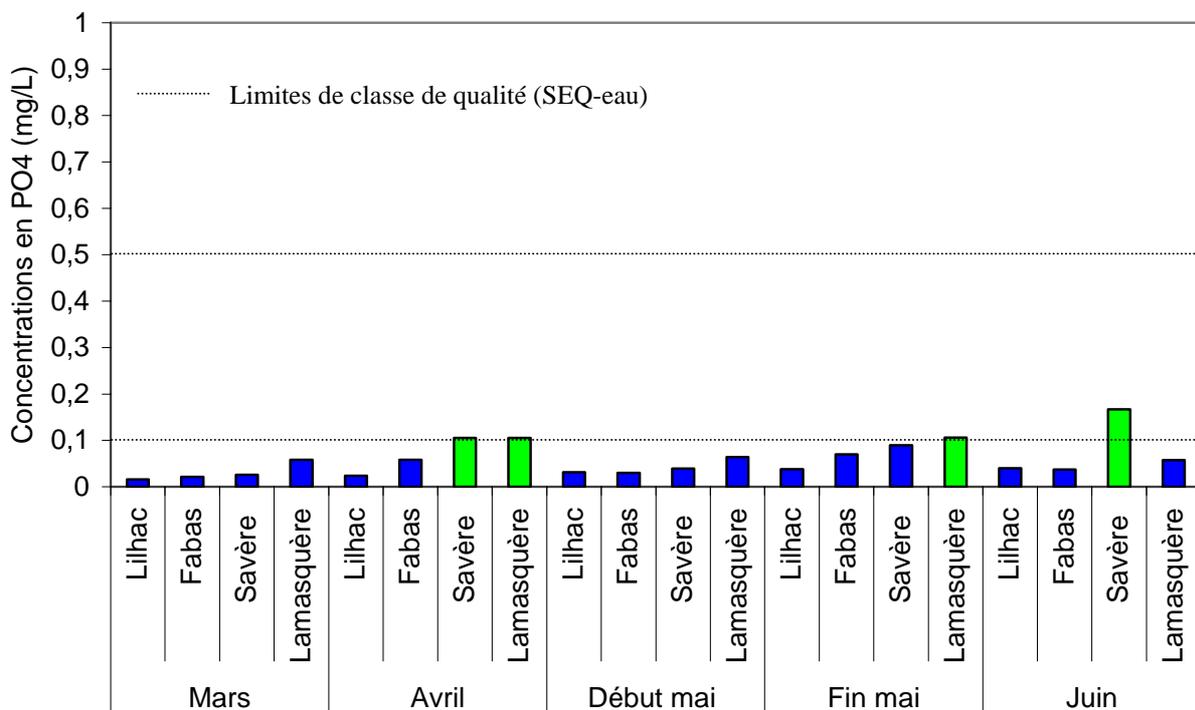
Aclonifène (µg/l)	0,007	0,07	0,7	2	
Alachlore (µg/l)	0,1	0,7	1,4	2	

Atrazine (µg/l)	0,02	0,2	1	2	
Atrazine-déséthyl (µg/l)	0,02	0,2	1	2	
Diuron (µg/l)	0,02	0,2	1	2	
Isoproturon (µg/l)	0,02	0,2	1	2	
Lindane (γ-HCH) (µg/l)	0,001	0,01	0,1	1,1	
Linuron (µg/l)	0,05	0,5	1,3	2	
Simazine (µg/l)	0,002	0,02	0,2	2	

Annexe 4 : Evolution des concentrations en PO₄ sur la Save et le Touch



Evolution des concentrations en PO₄ sur le Touch à chaque date de prélèvement



Evolution des concentrations en PO₄ le long de la Save à chaque période de prélèvement

Annexe 5 : Résultats des dosages de pesticides et qualités des eaux

Stations	Cours d'eau	DEA	Atrazine	Prométryne	Acetochlore	Aclonifène	Isoproturon	Diuron	Linuron	Métoxuron	Total
Auch	Sousson	0,05	5,53		0,04	0,04	0,10		0,54		6,29
Dareous	Sousson		0,83				0,09		0,19	0,03	1,14
Aujan	Sousson	0,05	0,06				0,23				0,34
Gorges	Save		0,03								0,03
Anan	Save		0,02								0,02
Espaon	Save		0,05								0,05
Cazaux	Save		0,11			0,03		0,09			0,26
Lilhac	Touch		0,14			0,03					0,18
Fabas	Touch		0,07			0,05					0,12
Savère	Touch	0,03	0,08								0,10
Lamasquère	Touch		0,05								0,05

Concentrations des différentes molécules herbicides dosées en avril sur le Sousson, la Save et le Touch

Stations	Cours d'eau	DIA	DEA	DET	Simazine	Atrazine	Acetochlore	Aclonifen	Isoproturon	Diuron	Linuron	Total
Auch	Sousson	0,02	0,04			0,06	0,51				0,03	0,66
Dareous	Sousson		0,06	0,13	<0,02	0,04	0,70				0,09	1,01
Aujan	Sousson	0,06	0,07			<0,02	0,13		<0,02			0,26
Gorges	Save		0,05	0,02			0,12			0,04	0,02	0,24
Anan	Save		0,03	0,03		0,09				0,20		0,35
Espaon	Save		0,08	0,12		<0,02				0,24		0,44
Cazaux	Save		0,04			0,09	0,13	0,07		0,27	0,07	0,67
Lilhac	Touch		0,03				0,10					0,13
Fabas	Touch		0,12			0,12	0,19	0,07		<0,02		0,49
Savère	Touch		0,07		<0,02	0,04						0,11
Lamasquère	Touch		0,04			0,04	0,03	0,03				0,13

Concentrations des différentes molécules herbicides dosées début mai sur le Sousson, la Save et le Touch

Stations	Cours d'eau	DIA	DEA	DET	Simazine	Atrazine	Acetochlore	Aclonifen	Isoproturon	Diuron	Linuron	total
Auch	Sousson	0,02	0,10		0,03	0,06		0,65				0,86
Dareous	Sousson		0,09			0,06	0,04				0,58	0,77
Aujan	Sousson		0,11			0,03			0,06		0,40	0,60
Gorges	Save			0,03						0,02		0,05
Anan	Save									0,04		0,04
Espaon	Save							0,08		0,06		0,13
Cazaux	Save	0,02	<0,02	<0,02	0,02	0,03		0,78		0,02		0,87
Lilhac	Touch		0,14		<0,02							0,14
Fabas	Touch	0,02	0,03			0,04						0,09
Savère	Touch	0,03	0,11			0,04		0,04				0,22
Lamasquère	Touch	0,02	0,02	0,03		<0,02						0,07

Concentrations des différentes molécules herbicides dosées fin mai sur le Sousson, la Save et le Touch

Annexe 6 : Matrices des corrélations entre les paramètres biologiques et biotiques

Le test de signification du coefficient de corrélation de Pearson nous a permis de distinguer les corrélations significatives (en jaune dans les tableau).

Matrice de corrélations des données du mois d'avril :

Paramètres	Densité	Matières organiques	Chlorophylle <i>a</i>	Formes anormales	Diversité	Biovolume
Nitrates	-0.483	-0.091	-0.564	0.151	0.527	0.209
Orthophosphates	-0.171	-0.450	-0.126	0.241	0.236	-0.297
Concentration totales en pesticides	-0.260	0.511	-0.158	-0.375	-0.269	0.143
Atrazine	-0.240	0.532	-0.146	-0.375	-0.264	0.136
Température	-0.124	-0.357	0.015	0.187	-0.154	0.679
pH	0.407	-0.094	0.322	0.059	-0.480	0.064
Conductivité	-0.286	-0.247	-0.001	-0.248	-0.047	0.256
Oxygène dissous	0.070	-0.256	0.179	0.149	-0.469	0.248

Matrice de corrélations des données de début mai :

Paramètres	Densité	Matières organiques	Chlorophylle <i>a</i>	Formes anormales	Diversité	Biovolume
Nitrates	0.054	-0.301	-0.199	-0.006	0.180	-0.220
Orthophosphates	0.251	0.071	0.186	-0.491	0.485	0.052
Concentration totales en pesticides	0.196	-0.139	0.078	0.320	0.228	-0.195
Atrazine	0.428	0.627	0.672	-0.285	0.304	0.112
Température	0.244	0.546	0.452	0.244	0.546	0.452
pH	0.096	-0.291	-0.158	0.096	-0.291	-0.158
Conductivité	-0.494	-0.577	-0.501	-0.494	-0.577	-0.501
Oxygène dissous	-0.064	-0.309	-0.089	-0.064	-0.309	-0.089

Matrice de corrélations des données de fin mai :

Paramètres	Densité	Matières organiques	Chlorophylle <i>a</i>	Formes anormales	Diversité	Biovolume
Nitrates	-0.022	-0.505	0.016	0.036	0.478	0.332
Orthophosphates	0.201	-0.676	-0.033	0.081	0.741	0.748
Concentration totales en pesticides	-0.141	-0.218	-0.016	-0.225	0.720	0.327
Atrazine	-0.112	-0.086	0.463	-0.204	0.372	0.101
Température	0.347	-0.117	-0.101	0.340	0.376	0.168
pH	0.395	0.321	0.206	0.432	0.083	0.389
Conductivité	-0.214	-0.211	0.139	-0.192	-0.157	-0.344
Oxygène dissous	0.004	0.278	0.075	-0.027	-0.179	0.025

Annexe 7 : Abréviations utilisées pour nommer les formes
anormales de diatomées

Abréviations	Diatomées
ADBT	<i>Achnanthydium biasolettianum</i> (Grunow)Lange-Bertalot f.teratogene
ADMT	<i>Achnanthydium minutissimum</i> (Kütz.) Czarnecki fo.teratogene
CPTG	<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg fo. teratogene
DVUT	<i>Diatoma vulgare</i> Bory fo. teratogene
FCCT	<i>Fragilaria capucina</i> Desm.v.capitellata (Grunow) Lange-Bertalot abnormal
FCVT	<i>Fragilaria capucina</i> var.vaucheriae(Kütz.)Lange-Bertalot fo. teratogene
GPAT	<i>Gomphonema parvulum</i> Kutzing fo. teratogene
NHTG	<i>Nitzschia heufleriana</i> Grunow fo. teratogene
UULT	<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch.) Compère fo. anormale