

24/12/2020

Chroniques de l'Erdre

Phytoplancton, Cyanobactéries et Toxines

Sommaire

2

Introduction: pourquoi cette étude ?	4
A- Synthèse bibliographique	5
1- Cyanobactéries et toxines: des manifestations connues depuis longtemps	5
2- Toxines: des familles de molécules variées	8
Hépatotoxines : Microcystines	8
Hépatotoxines : Cylindrospermopsine	9
Neurotoxines : Anatoxine-A	9
Neurotoxines : Homoanatoxine-A	10
Neurotoxines : Anatoxine-A(s)	10
Neurotoxines : les Saxitoxines	11
Autres toxines: Dermatotoxines	12
Autres toxines: Acides aminés	12
Autres toxines: Lipopolysaccharides	12
Des toxines: pour quoi faire ?	12
3- Toxicité et cas d'intoxication documentés	15
4- Impact des toxines sur la flore et les cultures	23
B- Phytoplancton et Cyanobactéries	25
1- La composition actuelle du phytoplancton est-elle comparable avec celle des années écoulées ?	25
2- Que montre l'analyse des chroniques ?	28
21- Evolution interannuelle des biomasses	29
22- Evolution saisonnière des biomasses	31
3- La biodiversité du phytoplancton de l'Erdre s'est-elle maintenue au fil du temps ou a-t-elle souffert d'une prépondérance de certaines espèces ?	37
4- Existe-t-il des populations risquant d'être remplacées par d'autres plus (ou moins) nuisibles ?	44
5- Peut-on observer l'apparition d'espèces jusqu'à maintenant considérées comme exotiques/invasives, et qui peuvent éventuellement tracer (aussi) les effets du changement climatique ?	46
C- Toxines	48
1- Quelles toxines peut-on potentiellement rencontrer dans l'Erdre ?	48
2- Plus spécifiquement, quelles variantes de toxines (et notamment de microcystines) peuvent être attendues dans l'Erdre ?	52
3- Quelles sont les causes possibles de l'écart entre les tests « ELISA » et les analyses par chromatographie pour la recherche des microcystines ?	59
• ELISA: tests bandelettes (semi-quantitatif) et microplaques (quantitatif)	62
• ELISA (microplaques) et LC/MS (quantitatif)	63
• Origine possible des écarts entre méthodes	66
4- Vérifier la pertinence des protocoles sanitaire et scientifique existants et améliorer leur efficacité	68

D- Perspectives d'évolution de l'Erdre	69
1- Analyser les facteurs influençant l'évolution des cyanobactéries et des périodes d'efflorescences, puis prévoir des tendances d'évolution des cyanobactéries	69
• Température	70
• Renouvellement des eaux	70
• Distribution des nutriments	71
• Phosphore	71
• Formes de l'azote	72
2- Evolution de l'environnement de l'Erdre fluviale	73
3- Construction des simulations	79
4- Résultat des simulations	82
41- Situation actuelle	82
42- Perspectives d'évolution pour les Cyanobactéries	84
• Impact sur la biomasse	84
• Impact sur la durée de présence des Cyanobactéries	85
• Impact sur les microcystines (MCs)	86
5- Bilan des simulations	87
• Comparaison entre embranchements	87
• Evolution des cyanobactéries	88
Bilan de l'étude	90
Annexes	94
Annexe 1- Bibliographie	94
Annexe 2- Données hydro-climatologiques	102

Introduction: pourquoi cette étude ?

Le syndicat mixte EDENN regroupe les collectivités du bassin versant de l'Erdre avec pour objectif de piloter la reconquête du bon état écologique de l'eau et des milieux aquatiques et le maintien de leur biodiversité. Ses missions comprennent aussi l'identification des pressions trophiques, chimiques, anthropiques... subies par l'Erdre.

Les enjeux de cette reconquête sont importants : l'Erdre assure une partie de l'alimentation en eau potable de l'agglomération nantaise, permet l'irrigation des cultures maraîchères locales, et héberge de nombreuses activités récréatives liées au milieu aquatique, les loisirs nautiques, la pêche... Tous ces usages peuvent être affectés par la dégradation de l'eau liés aux processus d'eutrophisation, qui se traduisent chaque année par des proliférations de Cyanobactéries, représentées majoritairement par des espèces toxigènes.

A la suite des premières études détaillées réalisées en 2002-2003 (Sétude et Sétude-UBA, 2004), l'EDENN a mis en place un observatoire scientifique destiné à agréger sur le long terme des données de terrain, des analyses physico-chimiques et un suivi du phytoplancton, des Cyanobactéries et des toxines. Cet observatoire a atteint sa forme actuelle à partir de 2005, et les données permettent de reconstruire une chronique homogène longue de 15 ans, objet de la présente synthèse.

Cette étude a pour objectif de répondre à plusieurs questions fortes : comment ont évolué les populations planctoniques depuis le début de l'Observatoire ? Peut-on noter une évolution des populations toxigènes ? une émergence d'espèces potentiellement exotiques ou invasives ? Quelles sont les conséquences pour la biodiversité dans l'Erdre ? Comment se traduisent les modifications liées au changement climatique ? Quel impact sur les toxines ? Les méthodes de suivi sont-elles adaptées aux enjeux ?

Pour traiter toutes ces questions de la manière la plus synthétique possible, il a été nécessaire de choisir une échelle de temps adaptée pour faire ressortir les variations de paramètres explicatifs sans les noyer dans les détails ; c'est l'échelle annuelle qui a été retenue. Afin de comparer les Cyanobactéries à l'ensemble du phytoplancton de l'Erdre, toutes les données de l'Observatoire ont été traitées sous forme de biomasse, seul paramètre permettant de replacer tous les groupes taxonomiques sur une échelle quantitative unique pour juger de leurs places respectives. Ce traitement sous forme de biomasse est encore peu habituel dans les études d'eutrophisation, mais il présente plusieurs avantages dont :

- la proportionnalité avec les nutriments, qui permet un lien direct avec la qualité des eaux et les phénomènes d'eutrophisation
- la proportionnalité entre biomasse de cyanobactéries et fréquences ou concentrations attendues en toxines
- conséquence de ces relations directes, la possibilité de construire des modèles prédictifs suffisamment fidèles pour évaluer l'influence de chaque paramètre environnemental sur l'évolution des populations planctoniques.

L'analyse de la biomasse est de plus depuis peu recommandée par l'ANSES comme estimateur du risque associé aux toxines (ANSES 2020) à travers le paramètre 'biovolume' explicité plus loin, et son usage est appelé à se généraliser dans le futur.

A- Synthèse bibliographique

Cette première partie vise, au travers d'une analyse de la bibliographie, à faire le point sur les incidents liés aux cyanobactéries et à leurs toxines, puis sur les incidences des toxines sur les humains, la faune et la flore.

1- Cyanobactéries et toxines: des manifestations connues depuis longtemps

5

Les cyanobactéries sont des organismes scientifiquement connus, décrits et observés depuis près de deux siècles: rien que l'espèce emblématique des eaux de l'Erdre, *Planktothrix agardhii*, tire son nom actuel des travaux de Komarek et Anagnostidis (1988), qui constituent la plus récente révision de ce phylum. Elle était auparavant connue sous le nom d'*Oscillatoria agardhii*, après une première révision établie par M. Gomont (1892) de l'espèce baptisée *Nostoc flos-aquae* par G.H.B. Jürgens en 1822. Leur capacité à flotter à la surface des lacs et à proliférer dans certaines eaux est particulièrement bien documentée depuis les premières descriptions botaniques

L'intérêt porté actuellement aux cyanobactéries ne provient pas tant de cette capacité à proliférer de manière parfois spectaculaire que de la prise de conscience relativement récente (années 80) de leur toxicité potentielle pour l'homme et les animaux, et reste l'objet de travaux de plus en plus nombreux. Alors qu'on associe souvent les proliférations de cyanobactéries et la production de toxines à des conditions chaudes et sèches ou aux zones tropicales, l'analyse de la bibliographie montre clairement qu'on retrouve quasiment toutes les familles de toxines partout à la surface du globe dès lors qu'on les recherche (fig. A1). C'est par exemple le cas des zones Arctiques et Antarctiques, où respectivement 2 et 4 familles de toxines ont été signalées dans des biofilms dont il semble que le développement soit accentué par le changement climatique (Du et al., 2019). Dans la pratique, les signalements sont plus nombreux en Europe, Amérique du Nord et Asie mais c'est a priori en raison d'une plus forte concentration de moyens scientifiques. Les zones géographiques où aucune toxine n'a été signalée sont en revanche plus certainement des endroits où elles n'ont pas encore été recherchées.

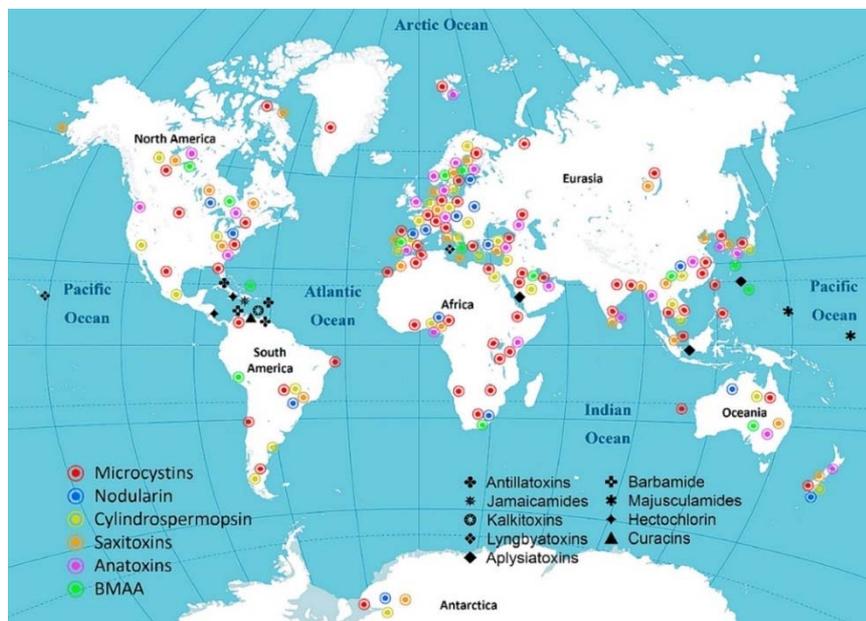


Fig. A1– Localisation des signalements de présence de toxines cyanobactériennes d'après l'étude bibliographique de Du et al. (2019). Chaque point correspond à une famille de toxines.

En Europe, les signalements d'épisodes de production de toxines concernent actuellement 25 pays, et les plus importants sont observables dans la mer Baltique, qui peut héberger des blooms de cyanobactéries toxigènes de près de 100 000 km².

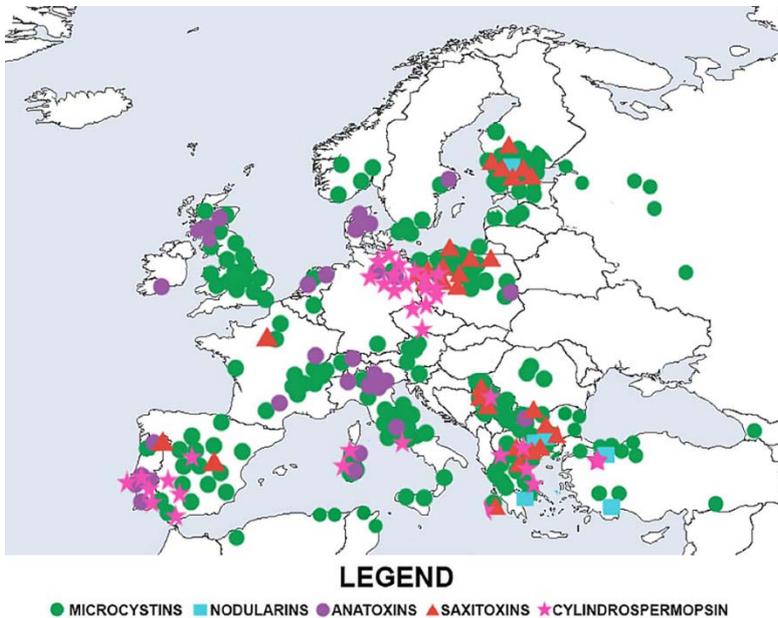


Fig. A2– Localisation des signalements de toxines cyanobactériennes en Europe d'après l'étude bibliographique de Zvričev et al. (2019).

Chaque point correspond à une famille de toxines.

Une autre étude bibliographique récente (Zvričev et al., 2019) recense un total de 273 sites touchés en Europe par un épisode de production de toxines, dont 188 lacs (fig. A2). Parmi ces épisodes, 58 % impliquaient la seule famille des microcystines (hépatotoxine, la plus répandue des cyanotoxines), 10 % des neurotoxines (anatoxines et saxitoxines), et 18 % des cylindrospermopsines (une autre hépatotoxine). Ces fréquences correspondent bien à ce qui est observé dans les masses d'eau du grand Ouest en France. Les intoxications humaines ou animales rapportées pour l'Europe représentent 20 % des cas rapportés dans la littérature scientifique mondiale.

En France métropolitaine, la zone la mieux suivie est certainement le grand Ouest (qui paradoxalement apparaît peu dans les études scientifiques). Une étude de synthèse réalisée par D. Olivier en 2018 relevait ainsi pour les 4 départements bretons un total de 117 sites (lacs et étangs) ayant été l'objet d'au moins un signalement ou une analyse montrant une prolifération de cyanobactéries (fig. A3).

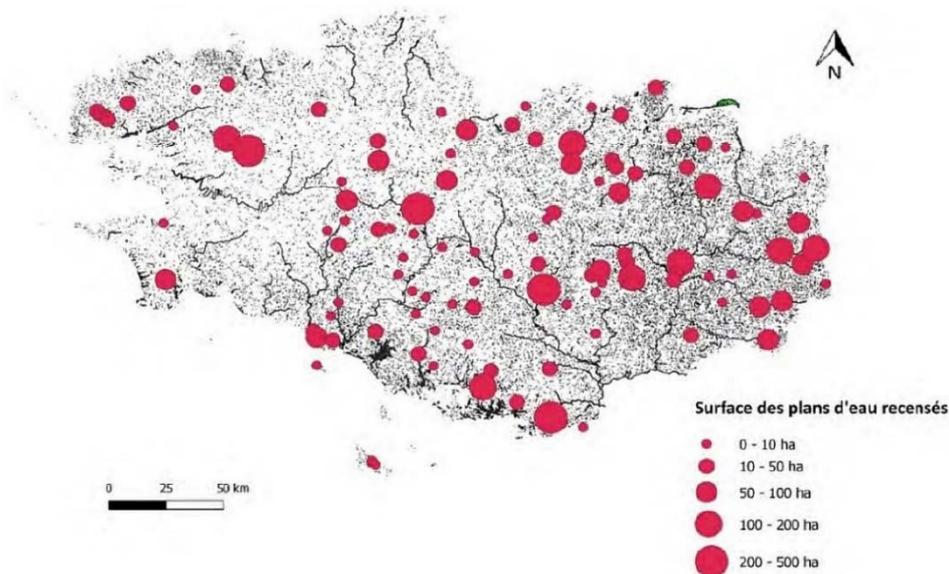


Fig. A3– Recensement des sites bretons ayant fait l'objet d'au moins un signalement pour prolifération de cyanobactéries, in D. Olivier (2018).

En Bretagne toujours, une étude régionale (Pitois et al. 2014) a montré que sur 38 plans d'eau suivis chaque année depuis 2004, 30 hébergent chaque année au moins 50 % d'espèces potentiellement toxigènes parmi les cyanobactéries qui y sont observées (fig. A4). Cette étude montre aussi que les épisodes de présence des cyanobactéries sont en progression constante en Bretagne depuis 2004, ce qui paraît expliqué par une augmentation des températures et de l'ensoleillement plus marquée pendant les mi-saisons: joint aux teneurs élevées de la plupart des masses d'eau en nutriments, ceci favorise l'apparition précoce et la survie tardive des cyanobactéries.

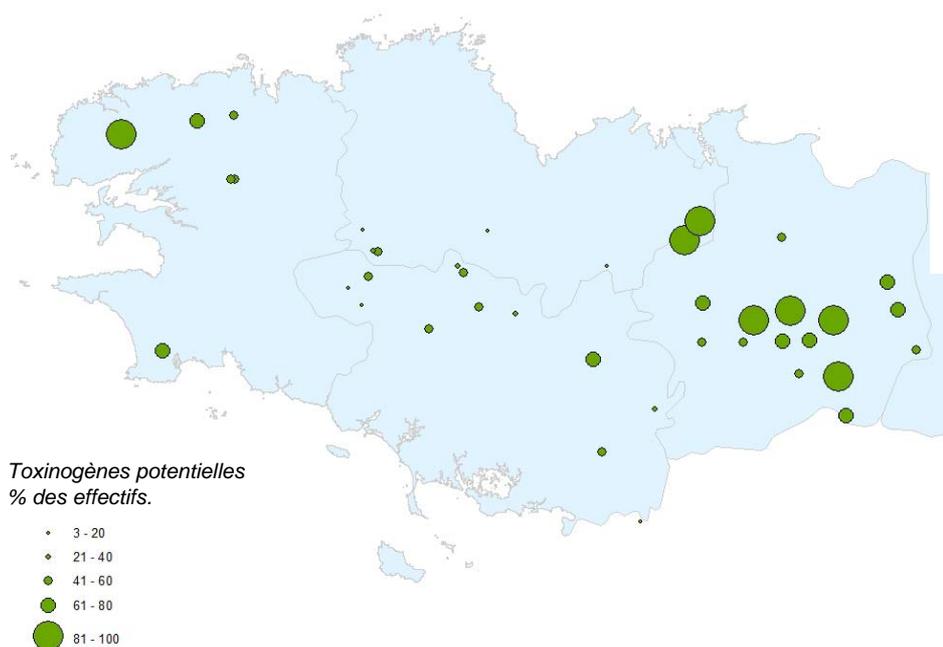


Fig. A4– Distribution des cyanobactéries potentiellement toxigènes dans les plans d'eau bretons suivis chaque été depuis 2004, in Pitois et al. 2014.

Dans les eaux de l'Erdre, enfin, dont la qualité est suivie chaque année depuis 2004, les cyanobactéries représentent un élément quasiment constant de la flore planctonique. Si l'amont du bassin versant paraît relativement épargné, les secteurs aval de l'Erdre sont chaque année soumis à des proliférations s'étendant de fin juin à fin septembre, voire fin octobre, avec une large dominance d'une unique espèce (*Planktothrix agardhii*) connue comme productrice potentielle de microcystines.

2- Toxines: des familles de molécules variées

Les cyanobactéries peuvent produire principalement deux types de toxines : les hépatotoxines et les neurotoxines, qui ont été étudiées depuis les années 80. D'autres composés parmi lesquels des cytotoxines et des dermatotoxines ont depuis également été mis en évidence.

Hépatotoxines : Microcystines

Les microcystines ont tout d'abord été isolées à partir du genre *Microcystis*, d'où leur nom. Elles constituent le groupe de cyanotoxines le plus diversifié du point de vue de la structure des molécules, et une synthèse récente en dénombrait 279 formes différentes (Bouaïcha et al., 2019). En France les genres producteurs de microcystines les plus souvent cités sont les *Microcystis*, *Planktothrix* et *Anabaena*. Les microcystines peuvent être décrites comme des heptapeptides monocycliques constitués de 5 acides aminés invariables formant le groupement ADDA, associés à deux acides aminés variables (Sivonen et Jones 1999). Les formes de microcystines diffèrent principalement par ces deux acides aminés et secondairement par la présence ou l'absence d'un groupe méthyl (formes méthylées ou déméthylées). La microcystine la plus commune est la microcystine-LR dont les acides aminés variables sont la leucine (L) et l'arginine (R). La formule générale est présentée dans la figure A5. Les microcystines sont des composés assez stables dans l'eau. La MC-LR peut persister plusieurs jours dans l'eau, avec une demi-vie de 2 à 4 jours en fonction de facteurs tels que température, rayonnement et activité bactérienne (Jones & Orr 1994). Les microcystines entraînent l'inhibition des protéines phosphatases et interviennent comme promoteurs de cancers chez les humains, notamment à partir du foie et du colon (Falconer 2005, Zhao et al. 2020). Des études épidémiologiques réalisées en Chine ont ainsi relié l'eau de surface utilisée comme eau de boisson avec le nombre important de cancers du foie et plus récemment des cancers de l'intestin (Ueno et al., 1996).

Il a souvent été suggéré que la production de microcystines par les cyanobactéries est influencée par des paramètres physiques et environnementaux dont l'azote, le phosphore, les métaux, la température, la lumière et le pH (Sivonen 1996). En raison du manque de standardisation des études la régulation des hépatotoxines demeure un sujet insuffisamment documenté. Depuis la description du groupe de gènes *mcy* (responsable de l'assemblage des MCs) certains auteurs se sont penchés sur l'étude de la régulation au niveau moléculaire. Kaebernick et al. (2000) ont montré que les fortes intensités lumineuses et la lumière rouge augmentaient la transcription des gènes *mcyB* et *mcyD* alors que la lumière bleue réduisait leur transcription, et qu'il existe des seuils d'intensité lumineuse entraînant une augmentation significative de la transcription.

De plus, l'intensité lumineuse semble favoriser la production de certaines variantes de toxines par rapport à d'autres. Par exemple, Tonk et al. (2005) ont observé que le contenu cellulaire en microcystines totales reste constant, indépendamment de l'irradiance. Cependant, des deux principaux variants de microcystines détectés chez *Planktothrix agardhii*, espèce omniprésente dans l'Erdre, le contenu en dmMC-RR diminue de moitié avec l'augmentation de l'irradiance alors que le contenu en dmMC-LR augmente du triple. Puisque la dmMC-LR est beaucoup plus toxique que la dmMC-RR, cela suppose que *P. agardhii* devient plus toxique avec de fortes intensités lumineuses. D'autres facteurs comme les nutriments et la température affectent l'expression des gènes *mcyS* et la biosynthèse des microcystines. Sevilla et al. (2008) ont montré qu'une carence en fer entraîne une augmentation de la transcription en corrélation avec une augmentation de la concentration en toxines. Davis et al. (2009) ont révélé que les températures élevées accélèrent la transcription du gène *mcyD*. Des conditions du milieu impliquant des températures et ensoleillements croissants peuvent donc permettre de produire plus de toxines à biomasse constante.

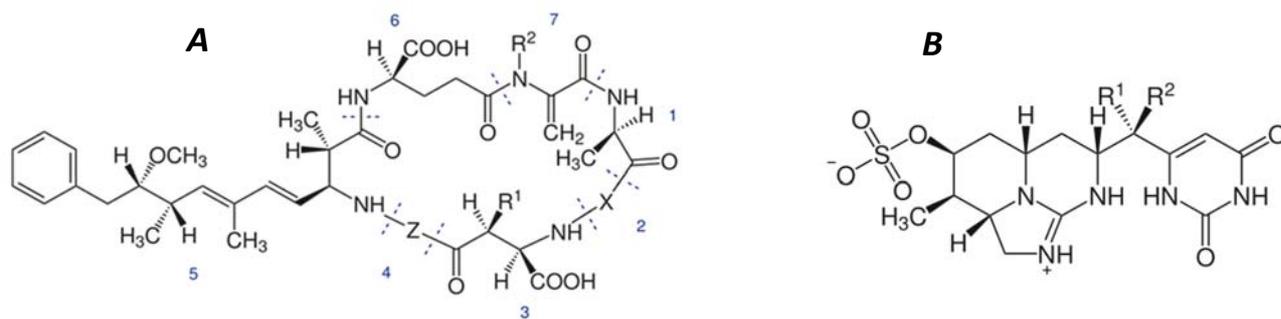


Fig. A5– Structures génériques de la microcystine (A) et de la cylindrospermopsine (B)

Hépatotoxines : Cylindrospermopsine

La cylindrospermopsine a été identifiée pour la première fois en Australie en 1979 quand 148 personnes ont été hospitalisées avec des symptômes d'hépto-entérite à Palm Island dans le Queensland. Elle a été tout d'abord mise en évidence chez *Cylindrospermopsis raciborskii*, puis chez *Aphanizomenon flos-aquae*, tous deux présents dans l'Erdre, puis *Aphanizomenon ovalisporum*, *Anabaena laponica* et *Raphidiopsis sp.* Jusqu'à présent des cyanobactéries productrices de cylindrospermopsines ont surtout été trouvées en Australie, en Asie de l'Est et du Sud-Est, au Japon, en Amérique du Sud et aux Etats Unis. Cependant depuis quelques années on remarque que *Cylindrospermopsis raciborskii* se propage dans l'hémisphère Nord (Fastner *et al.* 2003, Antal *et al.* 2011).

La cylindrospermopsine est un alcaloïde tricyclique avec trois formes possibles : la cylindrospermopsine, la 7-epicylindrospermopsine et la 7-déoxycylindrospermopsine (Falconer et Humpage 2006).

La cible principale de la cylindrospermopsine est le foie mais elle affecte aussi le thymus, les reins et le cœur (Terao *et al.* 1994). Elle inhibe fortement et irréversiblement la biosynthèse des protéines et induit l'apoptose des cellules du foie (Terao *et al.* 1994, Froscio *et al.* 2008, Gacsi *et al.* 2009). L'absorption de la toxine est relativement rapide car le blocage complet et irréversible de la synthèse des protéines intervient après une heure d'exposition *in vitro* (Falconer et Humpage 2006, Froscio *et al.* 2008). De plus, elle se lie de manière covalente à l'ADN et affecte significativement sa structure ; ce qui en fait une molécule à la fois cancérigène et mutagène (Shen *et al.* 2002, Mazur-Marzec 2006).

La synthèse de la cylindrospermopsine est également affectée par des facteurs environnementaux : par exemple, Saker et Neilan (2001) ont montré que la production de cylindrospermopsine chez *Cylindrospermopsis raciborskii* est plus forte dans les cultures privées de source d'azote. Chez *Aphanizomenon ovalisporum*, de fortes concentrations en sulfates induisent une augmentation de la production de cylindrospermopsine (Bácsi *et al.* 2006). Selon Preußel *et al.* (2009), la synthèse de CYN par *Aphanizomenon flos-aquae* diminue avec une augmentation de la température, ce qui corrobore les observations de Saker et Griffiths (2000), qui ont montré chez *C. raciborskii* une corrélation négative entre la production de CYN et la température.

Neurotoxines : Anatoxine-A

L'Anatoxine-A a été la première neurotoxine de cyanobactéries d'eau douce déterminée du point de vue chimique et fonctionnel, chez *Anabaena flos-aquae*. C'est un alcaloïde dont la structure est proche de celle de la cocaïne.

Elle agit comme un analogue de l'acétylcholine, en se fixant au niveau des récepteurs nicotiques et muscariniques des synapses musculaires. Il en résulte une stimulation permanente des cellules musculaires,

entraînant une paralysie progressive des muscles respiratoires (Carmichael 1994). Le manque d’oxygène dans le cerveau peut alors entraîner des convulsions et finalement la mort par suffocation.

Rapala *et al.* (1993) ont étudié l’impact de certains paramètres environnementaux, tels que la température, la lumière et les concentrations en orthophosphates et en nitrates, sur la production d’anatoxine-a de souches d’*Anabaena* et d’*Aphanizomenon*. Les fortes températures entraînent une baisse de la quantité de toxine produite pour les deux genres, tout comme les faibles intensités lumineuses (limitant la croissance) et les fortes intensités lumineuses (inhibant la croissance). Les cellules contiennent plus de toxines si elles sont cultivées dans un milieu carencé en azote. La concentration en orthophosphates n’a apparemment aucun impact sur la production de toxine.

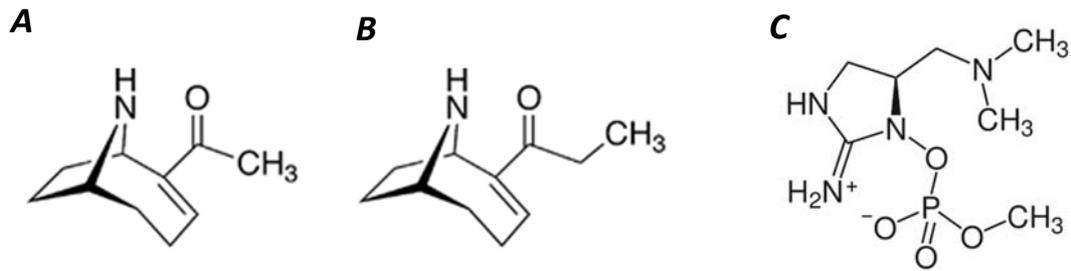


Fig. A6– Structures génériques de l’anatoxine-a (A), de l’homoanatoxine-a (B) et de l’anatoxine-a(s) (C)

Neurotoxines : Homoanatoxine-A

L’homoanatoxine-A a été isolée à partir de souches d’*Oscillatoria formosa* (synonymes : *Planktothrix formosum*, *Phormidium formosum*) et de *Raphidiopsis sp.*, et présente une structure proche de celle de l’anatoxine-A. Les mécanismes d’action toxique sont également très similaires à ceux de l’anatoxine-a ; sa cible principale est le récepteur de l’acétylcholine des synapses neuromusculaires (Lilleheil *et al.* 1997). Cette structure similaire permet d’émettre l’hypothèse de l’existence d’un précurseur commun aux deux toxines.

Neurotoxines : Anatoxine-A(s)

L’anatoxine-a(s) a été isolée à partir des souches d’*Anabaena flos-aquae*, d’*Anabaena lemmermannii* et d’*Anabaena spiroides*. Malgré son nom, sa structure n’a aucun lien avec celle de l’anatoxine-a. Pourtant, comme l’Anatoxine-A et l’Homoanatoxine-A, cette toxine se dégrade rapidement en solution basique mais est relativement stable en condition neutre ou acide (Sivonen 1996).

Son mode d’action est assez similaire aux insecticides organophosphorés, qui inhibent l’activité de l’acétylcholinestérase responsable du « nettoyage » de la fente synaptique après le passage de l’influx nerveux, et les cellules musculaires sont constamment stimulées (Carmichael 1994). Les symptômes sont les mêmes que ceux provoqués par l’anatoxine-a avec en plus des salivations, d’où la lettre (s).

Neurotoxines : les Saxitoxines

Les saxitoxines, responsables du syndrome PSP (Paralytic Shellfish Poisons), sont principalement synthétisées par les dinoflagellés marins. Ces toxines ont cependant été également identifiées chez *Anabaena circinalis*, *Aphanizomenon flos-aquae* et *Cylindrospermopsis raciborskii*. Les saxitoxines s'accumulent le long de la chaîne alimentaire, en particulier dans les organismes consommés comme produits de la mer (Garcia *et al.* 2004).

La saxitoxine est un alcaloïde dont dérivent une trentaine de molécules naturelles, principalement distinguées par le positionnement et le type des groupements présents dans les positions R1 à R5 (fig. A7). On retrouve ainsi les saxitoxines (STX) qui ne sont pas sulfatées, les gonyautoxines (GTX) qui possèdent un groupement sulfate, et les toxines C qui sont doublement sulfatées. On rencontre aussi des formes qui ne possèdent pas de fonction carbamate (dcSTX). Les dernières variantes sont nommées en fonction du microorganisme qui les synthétise, soit LW (pour *Lyngya wollei*) et GC (pour *Gymnodinium catenatum*) (Aráoz *et al.* 2010).

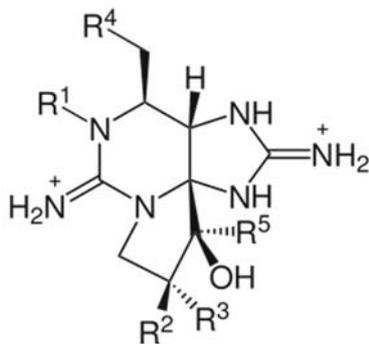


Fig. A7– Structure générique des saxitoxines

Les saxitoxines agissent en bloquant les canaux sodium des neurones, ce qui interrompt la propagation du potentiel d'action vers les cellules musculaires. Dans le cas d'une intoxication aiguë, ceci entraîne un engourdissement qui peut progresser vers une faiblesse musculaire, une perte de la coordination motrice et, finalement, une paralysie aboutissant à un arrêt cardiaque lié à la paralysie des muscles respiratoires (Pearson *et al.* 2010).

De nombreuses études ont porté sur leur synthèse par les dinoflagellés ; elles ont montré que les facteurs environnementaux tels que les nutriments (azote, phosphore), la salinité et la température régulent la production des PSPs. Peu d'études ont comparativement été réalisées sur les cyanobactéries productrices de saxitoxines.

D'après Carneiro *et al.* (2009), La production de saxitoxine par *Cylindrospermopsis raciborskii* augmente avec l'intensité lumineuse, ce qui concorde avec d'autres travaux réalisés sur les dinoflagellés. Ces auteurs ont montré également que la production de saxitoxine et de néosaxitoxine est contrôlée par une horloge biologique à rythme circadien. La plus forte production des deux toxines est observée lors de la phase lumineuse et avec une périodicité de 24 heures exactement.

Plusieurs autres familles de toxines ont été mises en évidence au cours des dernières années, et toutes ne sont pas encore bien documentées ; voir la synthèse de Du *et al.* (2019) et les références citées par ces auteurs. Leur distribution exacte reste à préciser.

Autres toxines: Dermatotoxines

Les Lyngbyatoxines et Aplysiatoxines sont des alcaloïdes à la fois inducteurs de réactions inflammatoires aiguës pour l'homme et la faune aquatique, mais aussi promoteurs de tumeurs. Ils ont été identifiés chez des cyanobactéries filamenteuses telles que *Lyngbya*, *Oscillatoria*, ou *Schizothrix*, qui sont toutes des espèces benthiques, c.a.d. qui développent des biofilms sur le fond des lacs et cours d'eau.

Ces toxines ont principalement été décrites en milieu marin tropical ou subtropical, mais aussi récemment sur les côtes italiennes.

12

Autres toxines: Acides aminés

La BMAA (β -N-Méthylamino-Alanine) est un acide aminé non-protéique dont plusieurs études suspectent son implication dans le développement de maladies neurodégénératives telles que la SLA ou la maladie d'Alzheimer (Cox et al. 2003). Mise en évidence chez la plupart des Cyanobactéries où elle a été recherchée, cette molécule est également produite par certaines Diatomées et Dinophycées, aussi bien en eau douce qu'en milieu marin.

Autres toxines: Lipopolysaccharides

Ces molécules sont constituées de chaînes d'acides gras et de polysaccharides synthétisées à l'intérieur de la cellule puis exportées vers le milieu extérieur pour tapisser la paroi externe de la membrane des bactéries Gram⁻ auxquelles appartiennent les Cyanobactéries.

Intervenant par contact direct ou par inhalation d'aérosols, elles peuvent déclencher des réactions allergiques, des syndromes de type gastro-intestinaux, des éruptions cutanées, des détresses respiratoires, des fièvres... L'absence de symptômes spécifiques rend la détection de ces épisodes difficile, d'autant qu'ils sont similaires à ceux découlant d'une exposition à d'autres bactéries Gram⁻ courantes dans l'environnement aquatique, telles qu'*Escherichia coli*.

Des toxines: pour quoi faire ?

Dès les premières observations de la toxicité des cyanobactéries, de nombreux travaux ont tenté d'identifier le rôle de ces molécules: savoir quelle est leur utilité pour les organismes producteurs pourrait en effet aider à prévoir les épisodes de production de toxines. Une fois de plus, les Microcystines, toxines les plus fréquentes, ont été largement plus étudiées que les autres.

L'une des premières hypothèses a été la protection contre la prédation par le zooplancton. Jang et al. (2003) ont par exemple montré que certaines souches de *Microcystis aeruginosa* augmentent leur production de toxine en réponse à l'exposition au zooplancton herbivore: ceci supporte l'hypothèse que cette réponse est une défense induite par la présence de prédateurs.

Pourtant des expériences de gavage de Daphnies avec deux souches de *Microcystis*, l'une toxique et l'autre non, ont montré que les Daphnies ne pouvaient pas distinguer les deux souches et les ingéraient indifféremment (Rohrlack et al. 1999).

L'ingestion de la souche toxique se traduit bien par une mortalité des Daphnies, mais la prédation des *Microcystis* est avant tout régulée par la taille des colonies; les prédateurs avalent plus facilement les petites colonies et ne paraissent pas capables de détecter la présence de toxines.

Actuellement, s'il est admis que les MCs puissent avoir un effet sur la prédation, la toxicité pour les organismes brouteurs n'est plus considérée comme une fonction primaire de ces molécules, d'autant plus que les gènes responsables de leur synthèse paraissent être apparus très tôt dans l'histoire évolutive des cyanobactéries, plusieurs centaines de millions d'années avant l'apparition des premiers prédateurs (Rantala et al., 2004).

Le débat reste ouvert sur les questions des cyanotoxines; selon les hypothèses celles-ci sont considérées comme des métabolites primaires, indispensables au développement de la cellule, ou comme des métabolites secondaires, avec un rôle dans la communication entre individus et la gestion du stress cellulaire. Plusieurs études ayant montré un avantage des souches hépatotoxiques par rapport aux non toxiques, on peut penser que les microcystines jouent un rôle physiologique important. Plusieurs pistes de réflexion récentes sont résumées ci-dessous:

• **Rôle allélopathique**

Pflugmacher et al. (2002) ont observé l'inhibition de la croissance de macrophytes aquatiques au contact de la microcystine-LR. Ces auteurs en ont déduit que cette toxine pourrait jouer un rôle allélopathique, forme de lutte biologique déjà bien documenté chez les végétaux terrestres. De même Sukeninik et al. (2002) ont décrit une interaction allélopathique dans laquelle *Microcystis* sp. inhibe la photosynthèse de dinoflagellés d'eau douce, suggérant que l'activité des MCs pourrait contrôler le développement des compétiteurs parmi les producteurs primaires, phytoplancton ou végétaux aquatiques.

Plus récemment, de nombreux travaux ont exploré ces interactions (Oberhaus et al. 2008, Zak et al. 2011, Barreiro et Vasconcelos 2012, Rzymiski et al. 2014, Briand et al. 2018...). Ils ont permis de mettre en évidence le rôle joué par de nombreuses familles de molécules dont les toxines ne représentent qu'une fraction.

• **Formation des colonies:**

Les microcystines pourraient jouer un rôle dans la formation des colonies. En effet, Zilliges et al. (2008) ont montré chez *M. aeruginosa* que la présence ou l'absence de MCs influait sur la synthèse d'une protéine extracellulaire (MrpC) impliquée dans l'agglomération des cellules en colonies, donc sur la taille de ces colonies, ce qui en retour impacte la flottabilité des *Microcystis* (les grosses colonies sont plus flottables que les petites) et la protection des cellules contre les intensités lumineuses excessives (les grosses colonies sont mieux protégées que les petites).

• **Quorum sensing**

Kaebnick et al. (2000) pensent que la microcystine pourrait avoir un rôle de molécule signal ou "quorum sensing", ce qui constitue la capacité à percevoir les populations microbiennes dans l'environnement proche de la cellule.

En accord avec cette hypothèse, Schatz et al. (2007) suggèrent que la présence des MCs en solution dans l'eau, suite à la lyse naturelle ou provoquée des cellules, serait interprétée comme le signal d'une augmentation de la mortalité stimulant la production de toxines par les cellules survivantes, en prévision d'un stress en cours d'apparition.

• **Rôle intracellulaire**

Zilliges et al. (2011) ont répertorié les éléments qui indiquent que les microcystines ont une fonction intracellulaire liée au stress oxydatif, tels que l'augmentation de leur production dans des conditions de forte luminosité ou de limitation/excès en fer disponible.

L'affinité de la microcystine pour le fer suggère en effet un rôle de sidérophore, donc de molécule capable de réguler les échanges de fer entre milieu intra- et extracellulaire. Dans des conditions de faible disponibilité du fer dans le milieu extérieur, les sidérophores fixent et concentrent le Fe^{2+} libre pour l'utilisation intracellulaire. De la même façon, la microcystine pourrait agir comme chélatant, fixant le fer excédentaire dans la cellule pour réduire la production de radicaux libres grâce à la formation de complexes fer-toxine (Utkilen et Gjolme 1995, Neilan 2008): les radicaux libres Fe-O produits pendant la photosynthèse sont particulièrement toxiques et dommageables pour l'ADN de la cellule.

• **Bilan**

Ces fonctions cellulaires pourraient être la fonction primaire et originale des microcystines, ce qui expliquerait pourquoi toutes les cyanobactéries ancestrales pouvaient produire des MCs (Rantala et al. 2004). La perte sélective des gènes responsables de la biosynthèse des MCs chez de nombreuses espèces de cyanobactéries pourrait alors être expliquée par le coût élevé (en termes métaboliques) associé à la maintenance de gènes et de complexe enzymatique dont l'utilité n'est plus aussi évidente avec l'évolution des conditions environnementales au cours du temps.

Pour autant d'autres fonctions ont pu apparaître au cours du temps, s'ajouter au rôle de médiateur du stress oxydatif, et justifier que certaines espèces conservent la capacité de production de toxines. Cette multitude de fonctions superposées explique vraisemblablement pourquoi il est toujours actuellement impossible de prévoir les épisodes de production des toxines alors qu'il est possible de modéliser (donc prévoir) les phases de développement ou de prolifération des cyanobactéries.

3- Toxicité et cas d'intoxication documentés

Le mode d'action des toxines peut être aigu, c.a.d. être la conséquence directe et immédiate (sous quelques jours) de l'exposition ponctuelle d'un sujet à une dose importante d'une ou plusieurs toxines, ou subaigu dans le cas de manifestations moins sévères et apparaissant à plus long terme après l'exposition.

Dans les cas de toxicité subaiguë, on peut compter les expositions subchroniques et chroniques, qui correspondent à la mise en présence récurrente des sujets avec des doses réduites de toxines mais avec une fréquence significative, à moyen (subchronique : de quelques semaines à 1 an d'exposition) ou long terme (chronique : plus d'un an d'expositions répétées).

Dans le cas des toxines de cyanobactéries, les seuils réglementaires actuels, pour la baignade ou l'eau de boisson, sont définis pour des expositions subchroniques. Ils sont calculés à partir de valeurs de toxicité aiguës (VTR: valeur toxicologique de références) estimées à partir de données expérimentales telles que la LD50, dose de toxine par unité de masse corporelle provoquant la mort de 50 % des organismes testés.

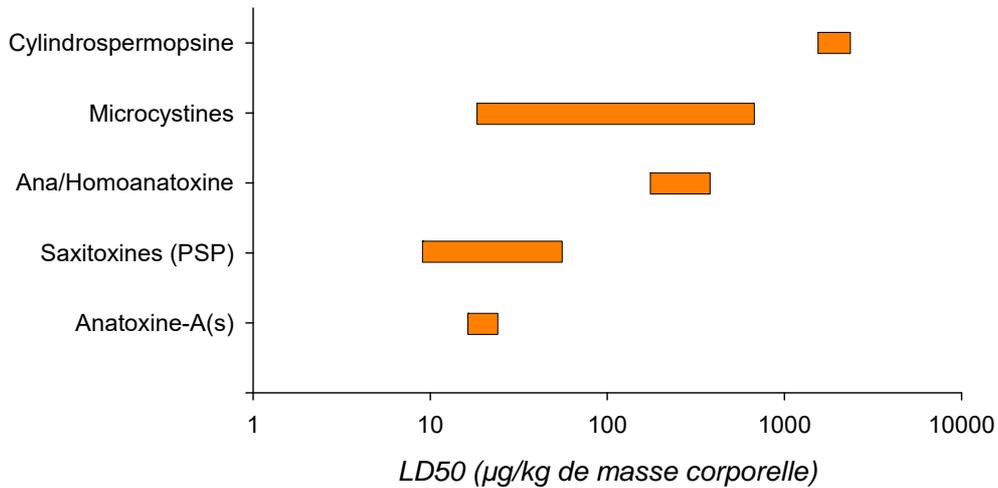


Fig. A8– Valeurs comparées des DL50 obtenues par injection intrapéritonéales sur souris pour les principales familles de toxines cyanobactériennes

Pour les toxines cyanobactériennes (fig. A8), ces doses sont comprises entre 10 et 50 µg/kg pour les saxitoxines et anatoxine-a(s), 50 et 600 µg/kg pour les ana-/homoanatoxine-a ou les microcystines, et d'environ 2 mg/kg pour la cylindrospermopsines.

A titre de comparaison, la LD50 du cyanure de potassium, chez la souris et toujours par injection intrapéritonéale, est d'environ 6 mg/kg: le cyanure est donc 3 fois moins toxique que la cylindrospermopsine et 600 fois moins que la saxitoxine. A l'autre extrémité du spectre, les toxines bactériennes les plus puissantes (toxines botuliques ou tétaniques) ont des LD50 de l'ordre du nanogramme par kilogramme, et sont donc 10 000 fois plus virulentes que la saxitoxine, ou 2 000 000 fois plus que la cylindrospermopsine.

Pour les seules MCs, l'étendue des DL50 est assez large en fonction des formes considérées (fig. A9): les formes méthylées classiques (les plus couramment recherchées en routine) varient de 40 à 260 µg/kg, avec une toxicité maximale pour les formes -LR et -LA. Les formes déméthylées, rarement recherchées mais fréquentes chez les espèces telles que *Planktothrix*, ont des LD50 variant de 50 à 380 µg/kg pour les variantes de MC-LR, et de 180 à 360 µg/kg pour les variantes de MC-RR. Bien que toutes les variantes n'aient pas été étudiées précisément, celles qui sont documentées montrent clairement une toxicité équivalente aux formes méthylées classiques.

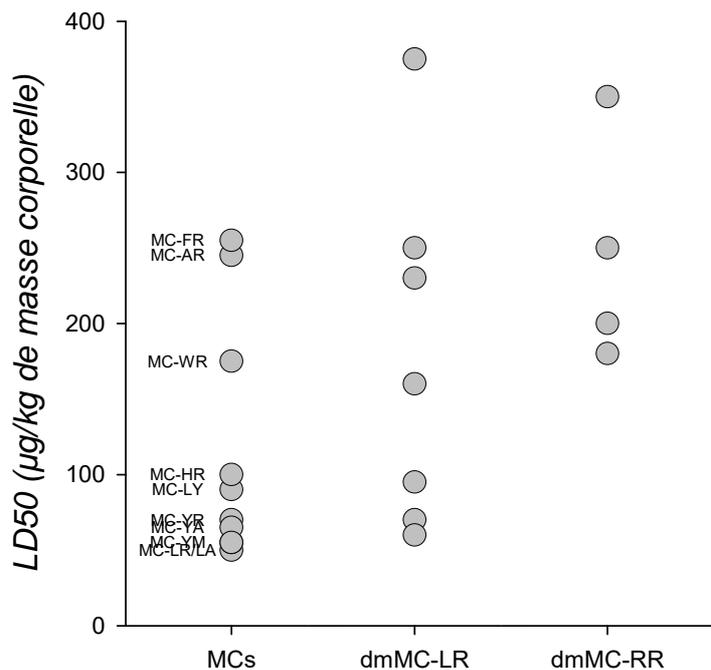


Fig. A9– Valeurs comparées des DL50 par injection intrapéritonéales sur souris pour les principales microcystines documentées dans la littérature

MCs: variantes méthylées

dmMC-LR et dmMC-RR: variantes déméthylées des MC-LR et MC-RR

Les premiers cas de gastro-entérites liées aux cyanobactéries ont été rapportés en 1931 dans des populations de plusieurs villes le long de la rivière Ohio aux Etats-Unis. Un bloom développé dans un bras de la rivière a provoqué, au cours de son déplacement vers l'aval, des séries de cas de maladies qui ne pouvaient pas être attribuées à des agents infectieux (Tisdale 1931). Depuis lors, parmi les cas les plus fréquemment rapportés de manifestations aiguës, on peut citer:

Canada, 1959. Dans la province de Saskatchewan, malgré la mort de bétail et les mises en garde contre l'utilisation récréative de l'eau, des personnes se sont baignées dans un lac infesté de cyanobactéries. Treize personnes ont été malades avec des symptômes tels que maux de tête, nausées, douleurs musculaires, diarrhées douloureuses. Des cellules de *Microcystis* spp. et des trichomes d'*Anabaena circinalis* ont été clairement identifiés dans les selles d'un patient ayant ingéré de l'eau accidentellement (Dillenberget Dehnel, 1960).

Suède et Finlande, 1978. Dans le cadre domestique, l'inhalation d'aérosols de lipopolysaccharides cyanobactériens (fragments de paroi cellulaire) sous la douche a été la cause d'une épidémie de syndromes grippaux étalée sur plusieurs mois et associant fièvres, courbatures, douleurs articulaires, conjonctivites et maux de tête, qui ont touché 177 (Anadotter et al. 2005).

Australie, 1979. Une épidémie de gastro-entérites a touché 148 personnes, en particulier des enfants, la majorité des cas ayant nécessité une hospitalisation (Hawkins et al. 1985).

Les symptômes étaient ceux de la gastro-entérite: foie gonflé et douloureux, douleurs abdominales, constipation et vomissements. Des dégâts aux reins ont également été observés. Ce phénomène est apparu quelques jours après le traitement au sulfate de cuivre du réservoir qui alimente la ville, ce qui a provoqué la lyse des cellules de *Cylindrospermopsis raciborskii* et la libération des toxines. Avant cet incident la toxicité de cette espèce n'était pas connue.

Brésil, 1988. Suite à la mise en eau du nouveau barrage d'Itaparica dans l'état de Bahia, 2000 cas sévères de gastro-entérites ont été rapportés sur une période de 42 jours ; 88 cas ont entraîné le décès des malades.

L'eau non traitée contenait de fortes densités (1 000 000 cellules par mL) de cyanobactéries des genres *Anabaena* et *Microcystis* (Teixeira et al. 1993).

Angleterre, 1989. Dans le Staffordshire, deux jeunes soldats ont présenté des symptômes de grippe (maux de gorge, toux sèche, vomissements et douleurs abdominales) après avoir nagé et fait du canoë dans un réservoir d'eau douce contenant des *Microcystis*. Des signes de pneumonie ont également persisté pendant quatre jours. L'analyse de sang d'un des jeunes a montré un taux élevé d'enzymes hépatiques, révélant des perturbations au niveau du foie. L'étude de la toxicité du bloom a révélé la présence de microcystine-LR (Turner et al. 1990).

Portugal, 1993. Certains habitants de l'Alentejo ont développé des signes de gastro-entérites qui seraient liés à la lyse des cellules d'un bloom d'*Aphanizomenon flos-aquae* dans la rivière Guadiana. Les symptômes présentés étaient des maux de tête, des vomissements et des diarrhées. Cependant aucune étude n'a été réalisée pour confirmer la toxicité de ce bloom (Vasconcelos et al. 1993).

Suède, 1994. En septembre, dans le sud du pays, 121 personnes de trois villages ont développé des symptômes de gastro-entérites. La maladie a coïncidé avec la contamination de l'eau de boisson municipale avec de l'eau non traitée de la rivière Kävlingeån, l'exutoire du Lac Vombsjön. L'examen clinique des patients n'a pas détecté de bactéries ou de virus pathogènes. Les recherches se sont alors tournées vers *Planktothrix agardhii* qui était présente dans la rivière. Les analyses réalisées 6 jours avant et 2 semaines après l'évènement ont montré la présence de microcystines dans les échantillons d'algues et d'eau. (Annadotter et al. 2001).

Hongrie, 1994. Une étude épidémiologique rétrospective dans un camp de vacances a montré que 100 à 150 enfants ont souffert d'irritation de la peau et des yeux après des activités dans un plan d'eau contenant un bloom important de *Microcystis aeruginosa* dans le lac Velencei (Törökné, 2005, données non publiées).

Brésil, 1996. En février, dans une clinique d'hémodialyse, à Caruaru, sur 131 patients, 116 ont souffert de troubles visuels, de nausées, de vomissements, après un traitement de routine. Par la suite 100 patients ont développé des troubles hépatiques graves; 52 cas de mortalité ont pu être attribués à ce qu'on nomme maintenant le « syndrome Caruaru ». Le réservoir d'eau qui alimentait la clinique contenait deux groupes d'hépatotoxines : les microcystines et la cylindrospermopsine. La comparaison des symptômes des victimes avec ceux obtenus au cours d'études sur les animaux ont permis de conclure que le facteur principal ayant entraîné la mort des patients était l'exposition intraveineuse aux microcystines (Jochimsen et al. 1988, Azevedo et al. 2002).

Australie, 1997. Une étude épidémiologique (Pilotto et al. 1997) montre que des problèmes sanitaires tels que des irritations des yeux, de la peau et des oreilles, de la fièvre, des ulcères buccaux, des diarrhées, des vomissements et des états grippaux sont survenus après des activités aquatiques.

Cette étude montre une corrélation entre les symptômes et les effectifs de cyanobactéries ainsi que le temps passé dans l'eau. Cependant les auteurs n'ont trouvé aucune corrélation entre le contenu en toxines et les symptômes. Cela suggère qu'il existe chez les cyanobactéries des molécules à action irritative, voire allergique, sans relation avec les cyanotoxines.

Argentine, 2007. Un jeune homme s'est immergé accidentellement dans un bloom de *Microcystis weissenbergii* et *Microcystis aeruginosa* et a été exposé à une concentration en MC-LR d'environ 50 µg/litre. Des troubles gastroentériques, puis pulmonaires, ont débuté quelques heures après l'immersion. Malgré son admission en soins intensifs, il a développé une hépatite dont le traitement a nécessité 3 semaines (Giannuzzi et al., 2011).

On peut noter que la plupart de ces signalements remontent aux années 80 à 2000. Il est vraisemblable qu'avant les années 80 et le début des travaux scientifiques des années suivantes, la plupart des cas n'ont pas été rapportés: faute de symptômes spécifiques, on n'associait alors pas nécessairement les cyanobactéries à des pathologies précises. Depuis lors, et suite au premier rapport de synthèse de l'OMS (1999), la diminution des signalements peut être mise au crédit de l'information du public et des gestionnaires, et à la mise en place de seuils réglementaires et de suivis de contrôle.

Pour autant, de nombreux autres effets de l'exposition aux cyanobactéries et à leurs toxines associés à des manifestations moins sévères sont à l'étude depuis les années 1990-2000. Il s'agit notamment des risques associés aux aspects allergènes, cytotoxiques ou perturbateurs endocriniens, qui restent délicats à évaluer en raison de la complexité de leurs modes d'action.

Des études épidémiologiques ont été conduites pour évaluer l'exposition des baigneurs. Backer et al. (2008 ; 2010) ont ainsi montré que lors des activités nautiques, outre l'ingestion d'eau, les autres voies d'exposition possibles sont l'inhalation d'aérosols de toxines et de cellules de cyanobactéries. Ces aérosols peuvent en effet être détectés dans l'air jusqu'à plusieurs kilomètres des sites de baignade (Cheng et al., 2007, Kirkpatrick et al., 2010) et plusieurs jours après un épisode de prolifération (Lang-Yona et al., 2014); les cyanobactéries y sont dominantes jusqu'à 2-3 000 mètres d'altitude (Carson et Brown, 1976; Maki et al., 2015). Le contact direct avec les parois cellulaires riches en lipopolysaccharides peut induire des réactions allergiques et/ou pyrogènes chez les sujets notamment atopiques ou asthmatiques jusqu'à 5 jours après exposition (Kirkpatrick et al., 2011). La présence avérée de MCs dans les échantillons prélevés sur les muqueuses nasales de baigneurs montre qu'il existe bel et bien une possibilité d'exposition subaiguë et chronique par voie respiratoire (Backer et al., 2010).

Ces expositions aux toxines à doses subaiguës montrent plusieurs types d'effets, encore peu documentés : Pour les MCs, on a pu mettre en évidence des effets immunodépresseurs sur les lymphocytes B et T (chez la souris ; Shen et al., 2003), une activité oestrogénique (Sychrova et al., 2012) et une activité génotoxique par fragmentation de l'ADN (Zegura et al., 2011a). Les saxitoxines peuvent être impliquées dans des dérèglements du développement neurologique embryonnaire et montrent une forte activité anti-estrogène chez certains poissons (Tian et al., 2014). La cylindrospermopsine est connue comme responsable d'atteintes au foie, aux reins, au thymus... Elle possède également une activité anti-progestérone et cytotoxique (Young et al., 2008) et de promotion de tumeurs hépatiques (Zegura et al., 2011b), seule ou en synergie avec d'autres toxines ou sous-produits du métabolisme cyanobactérien (Nováková et al., 2012).

La problématique des expositions subaiguës/chroniques oblige à considérer également les eaux destinées à la consommation humaine: même si les traitements mis en place dans les stations doivent permettre l'élimination des cyanobactéries et de leurs toxines, il existe une possibilité d'en retrouver dans les eaux potables à de faibles concentrations (Mérel et al., 2013). Une exposition chronique à de faibles concentrations de toxines pourrait causer en particulier la cancérogénèse et la promotion de tumeur, qui doivent être évaluées avec prudence car ces deux phénomènes ont été mis en évidence lors d'expérimentations sur les animaux (Falconer 1991, Nishiwaki-Matsushima et al. 1992).

La capacité à promouvoir des tumeurs peut être visualisée au travers des tests enzymatiques de type PP2A: l'inhibition de l'activité des Protéines Phosphatases (IC50: concentration en toxine provoquant une réduction de 50 % de l'activité enzymatique) est en effet bien corrélée à la promotion de tumeurs dans les cellules hépatiques. De nombreuses variantes de MCs ont été étudiées, et il apparaît que les formes méthylées classiques ont un effet inhibiteur 2 à 10 fois plus élevé que les variantes déméthylées (fig. A10).

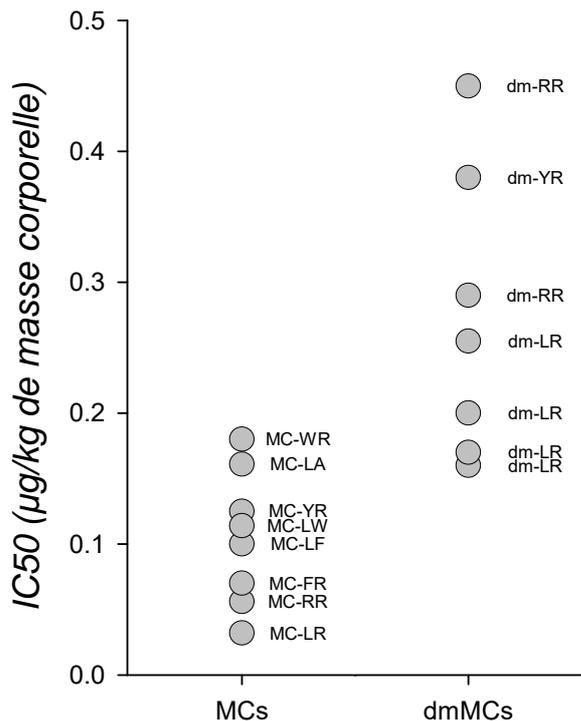


Fig. A10– Valeurs comparées des IC50 pour les PP2A de cellules hépatiques humaines impliquées dans la promotion de tumeurs pour les principales microcystines documentées dans la littérature

MCs: variantes méthylées

dmMCs: variantes déméthylées

Les effets à long terme d'exposition chroniques aux microcystines ont notamment été mis en évidence au travers d'études épidémiologiques. Plusieurs d'entre elles ont ainsi montré qu'une exposition chronique aux microcystines via l'alimentation (eau de boisson, nourriture...) provoque des lésions du foie et s'accompagne d'une fréquence plus élevée du cancer hépatique chez l'adulte mais aussi chez l'enfant.

La fréquence du carcinome hépatocellulaire en Chine est l'une des plus fortes du monde. Des études ont été menées dès les années 90 dans le but de préciser si les cyanotoxines sont des facteurs de risques qui augmentent la fréquence de cette maladie.

Une étude épidémiologique réalisée dans la province de Gidong, au Nord de Shanghai, où la population boit principalement de l'eau brute d'étangs et de rivières, illustre l'implication des microcystines dans le développement de cancers du foie avec un taux de prévalence huit fois supérieur à celui des populations consommant de l'eau traitée (Carmichael 1994).

Dans le sud-est de la Chine, plusieurs études ont montré une augmentation de l'incidence de cancers du foie chez les populations qui utilisaient l'eau de surface comme source d'eau potable au lieu d'eau provenant de puits (Yu, 1995). L'eau de surface étant fréquemment contaminée par des cyanobactéries dans ces régions, cela a permis d'émettre l'hypothèse d'un lien possible avec l'exposition aux toxines de cyanobactéries : selon Ueno et al. (1996), dans le sud de la Chine la principale source de cancer primaire du foie est la concentration des microcystines dans l'eau de boisson.

Dans la province d'Anhui, Chen et al. (2009) ont réalisé une étude sur des pêcheurs qui vivent près du Lac Chao. Ce lac est régulièrement sujet à des efflorescences de cyanobactéries, dominées par les genres *Anabaena* et *Microcystis*. Pour la première fois, la présence de microcystines dans le sérum des sujets a été confirmée avec une concentration moyenne de 0.39 µg/L. La consommation journalière de toxines par pêcheur a été estimée à environ 2.2 à 3.9 µg d'équivalent microcystine-LR par Kg de masse corporelle alors que la dose journalière tolérable recommandée par l'OMS est de 0.04 µg/Kg soit 2 à 3 µg par personnes.

Une analyse statistique a montré une corrélation positive entre les concentrations de microcystines dans le sérum et les concentrations des enzymes du foie.

Dans la province de Hubei, une étude réalisée de 2005 à 2009 avait pour but d'établir le lien entre l'exposition aux microcystines et les troubles hépatiques chez les enfants de la région du barrage des Trois Gorges (Li et al. 2011). Les concentrations de microcystines ont été mesurées dans l'eau de boisson et dans la nourriture d'origine aquatique (carpe et canard) de deux lacs et quatre puits. L'étude a porté sur 1 322 enfants âgés de 7 à 15 ans qui ont consommé de l'eau d'une des sources testées, ont complété un questionnaire et ont subi des prises de sang pour doser les microcystines et les enzymes hépatiques dans le plasma. Des microcystines ont été trouvées dans la plupart des échantillons d'eau et de nourriture. La dose journalière des enfants qui ont bu de l'eau du lac contenant la plus forte concentration de microcystine a été estimée à 2.03 µg, soit 5 fois la dose journalière tolérable (0.40 µg) proposée par l'OMS pour les enfants. Les taux d'enzymes hépatiques étaient significativement plus élevés chez les enfants exposés à des concentrations élevées de microcystines que chez les enfants non exposés aux microcystines.

Ces résultats montrent les risques pour la santé d'une exposition chronique aux microcystines pour les populations fortement exposées (telles que les pêcheurs) ou les plus sensibles (comme les enfants). Un groupe de travail de l'OMS a finalement évalué les informations concernant la cancérogénicité de certaines toxines des cyanobactéries. À la suite de l'étude des données épidémiologiques, le groupe a classé la microcystine-LR comme étant potentiellement cancérigène chez l'humain (groupe 2B), sur la base des mécanismes tumoraux mis en lumière par des études cellulaires et animales (Grosse et al., 2006).

Outre leurs effets sur la santé humaine, les cyanotoxines ont été reconnues responsables de nombreux cas de mortalités d'animaux à travers le monde. Le premier cas rapporté dans la littérature date de plus d'un siècle : du bétail, des moutons, des chiens, des chevaux et des porcs sont morts après avoir bu de l'écume de *Nodularia spumigena*, qui est une cyanobactérie d'eau saumâtre (Francis G. 1878).

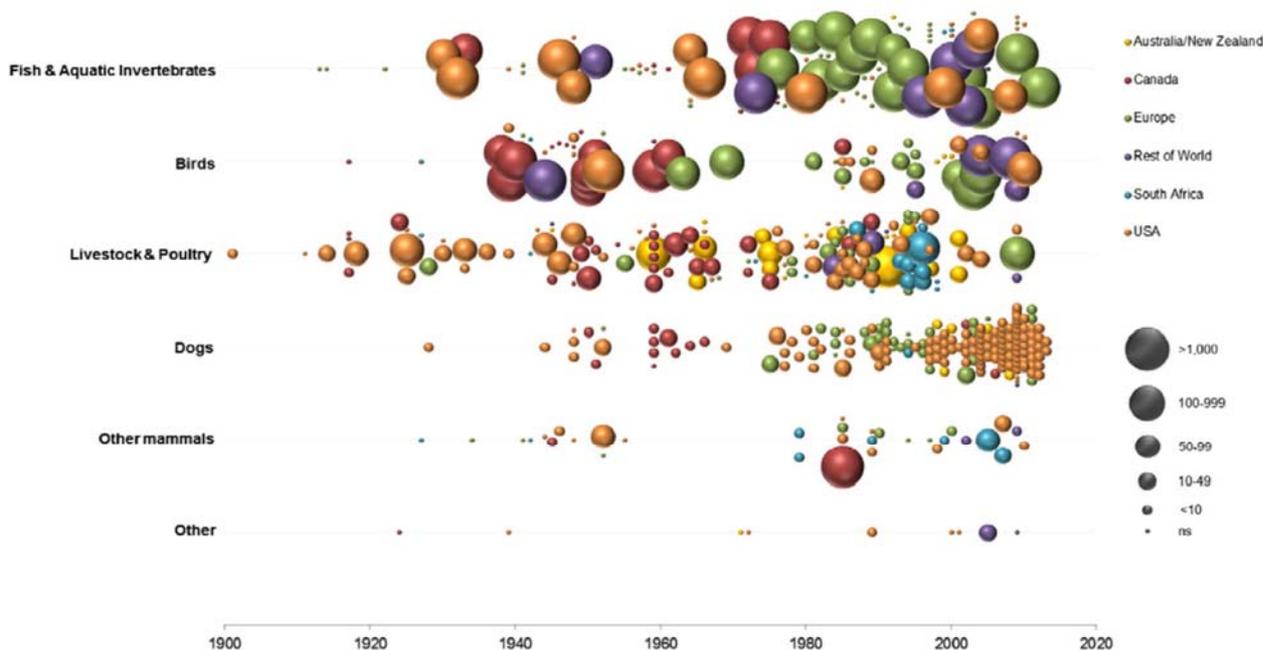


Fig. A11– Synthèse chronologique des signalements d'intoxications animales par des cyanobactéries depuis 1900 (in Wood, 2016). Chaque point représente un épisode, le diamètre représente les effectifs touchés

Depuis, de nombreux cas de mortalité d'animaux associés avec une exposition aux cyanobactéries ont été décrits, avec des tendances variables au cours du temps : on pouvait ainsi compter une dizaine de signalements par décennie de 1900 à 1940, puis 20 à 25 jusqu'en 1970, et depuis lors de 45 à un maximum actuel de 95 incidents par décennie en 2010 (Wood, 2016).

Dans le même temps les types de signalements ont évolué (fig. A11) : depuis 1960 le nombre de signalements de mortalité d'oiseaux, poissons et invertébrés restait relativement constant par décennie. Les épisodes de mortalité de bétail étaient en augmentation continue jusqu'aux années 90, et en recul depuis. En revanche, depuis le début des années 90 ce sont les intoxications de chiens et autres mammifères domestiques qui sont en expansion rapide, sans que l'auteur de l'étude citée ne pose d'hypothèse pour expliquer ces évolutions.

Comme pour les intoxications humaines, il est possible que de nombreux épisodes anciens n'aient pas été rapportés faute de lien avec la présence de cyanobactéries. La prise de conscience de l'existence des toxines peut être la cause de l'augmentation des signalements à partir des années 1960-70. La diminution des cas d'intoxication de bétail depuis les années 2000 peut être liée à l'amélioration des conditions sanitaires d'abreuvement des animaux. L'explosion des cas d'intoxication de chiens depuis 20 ans, enfin, peut être expliquée par une plus grande sensibilité du public à la santé des animaux de compagnie, et à des signalements plus fréquents de leur décès aux autorités sanitaires.

Quelques cas particuliers sont présentés dans le tableau A1 page suivante. Loin d'être exhaustifs, ils permettent de visualiser la variété des animaux touchés et montrent que toutes les familles de toxines ont pu être impliquées dans ces épisodes.

Tableau A1- Cas particuliers d'intoxication animale par les toxines de cyanobactéries

Pays	Année	Animaux	Cyanobactéries	Toxines	Référence
Afrique du Sud	1989	7 girafes	<i>Microcystis aeruginosa</i>	microcystine	Oberholster <i>et al.</i> 2005
Irlande	1992,1993 1994	5 Chiens	<i>Oscillatoria sp.</i> (benthique)	anatoxine-a	James <i>et al.</i> 1997
Danemark	1993	Chiens, corbeaux, canards poissons	<i>Anabaena lemmermannii</i>	anatoxine-a(s)	Henriksen <i>et al.</i> 1997, Onodera <i>et al.</i> 1997
Australie	1994	13 brebis et 1 bélier	<i>Anabaena circinalis</i>	saxitoxines (GTX2, GTX3)	Negri <i>et al.</i> 1995b
Afrique du Sud	1996	290 bovins	<i>Anabaena spp.</i> <i>Oscillatoria spp.</i>	microcystines	Oberholster <i>et al.</i> 2005
Australie	1997	Bétail	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	cylindrospermopsine	Saker et Thomas 1999
Afrique du Sud	1998	bétail	<i>Anabaena spp.</i>	neurotoxine	Oberholster <i>et al.</i> 2005
Suisse	de 1977 à 1997	100 bovins	<i>Oscillatoria limosa</i> <i>Oscillatoria tenuis</i>	microcystines	Mez <i>et al.</i> 1997
Australie	2001	55 vaches	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	cylindrospermopsine	Stewart <i>et al.</i> 2008
Kenya	2001	Flamands roses		microcystines anatoxine-a	Krienitz <i>et al.</i> 2003
Tanzanie	2004	Flamands roses	<i>Arthrospira fusiformis</i>	Inconnue	Lugomela <i>et al.</i> 2006
France	2003	2 chiens	<i>Phormidium favosum</i>	anatoxine-a	Gugger <i>et al.</i> 2005
France	2005	20 chiens	<i>Phormidium sp.</i>	anatoxine-a, homoanatoxine-a	Cadel-six <i>et al.</i> 2007
Algérie	2005	Tortues d'eau douce	<i>Microcystis sp.</i>	microcystines	Nasri <i>et al.</i> 2008

4- Impact des toxines sur la flore et les cultures

On a déjà cité dans les chapitres précédents les effets des toxines sur la flore planctonique ou macrophytique, au travers de la compétition pour les ressources (allélopathie). D'autres effets peuvent cependant être illustrés sur les végétaux terrestres, notamment les productions agricoles irriguées avec de l'eau contaminée par des cyanobactéries toxiques.

Plusieurs études récentes se sont en effet intéressées à l'impact des toxines sur la croissance végétale et l'accumulation dans les parties consommées. Pereira et al. (2017) ont par exemple montré que l'exposition de persil et coriandre à des concentrations environnementales de MCs et CYN (de 0.1 à 1 µg/l) induisait une réponse dans la balance enzymatique des plantes, mais pas d'accumulation significative de toxines dans les feuilles.

Machado et al. (2017) ont par contre mis en évidence, sur des carottes exposées à des MCs (de 10 à 50 µg/l) un retard de croissance des plants et des racines, une baisse de l'efficacité photosynthétique, et une accumulation des MCs dans les racines atteignant 5 µg/kg.

Coa et al. (2018) ont procédé à des cultures de laitue et de plants de riz pendant 120 jours en les exposant à de l'eau de lac contenant 1 à 5 µg/l de MCs. En fin d'expérience, les feuilles de salade contenaient en moyenne jusqu'à 183 µg/kg de toxines, contre un maximum de 5 µg/kg dans les grains de riz.

Les essais de Levizou et al. (2019) ont porté sur des cultures de radis et de carottes arrosées un mois et demi avec de l'eau de lac contenant 3.8 µg/litre de MC-LR et RR. En fin d'expérience, les racines contenaient de 206 à 680 µg/kg de MCs totales et montraient des déficits de biomasse de 30 à 50 % comparées aux cultures de contrôle. La consommation de 15 grammes de racines par jour pour un adulte, ou 7.5 grammes pour un enfant, représente alors 2 à 5 fois la dose journalière tolérable définie par l'OMS.

Les résultats présentés par Lee et al. (2017) sont de ce point de vue particulièrement explicites: les auteurs ont cultivé pendant 12 semaines des laitues, des carottes et des haricots verts avec de l'eau de lac dopée à 0, 1, 5 et 10 µg/litre de MC-LR.

Leurs résultats montrent tout d'abord que l'accumulation des toxines est proportionnelle à la concentration de l'eau en MCs, pour atteindre des maxima de 105 µg/kg dans les laitues, 210 µg/kg dans les carottes et 45 µg/kg dans les haricots verts.

Les calculs de prise alimentaire montrent que la dose tolérable admissible était dépassée d'un facteur 2 à 3 pour un enfant et jusqu'à 2 pour un adulte avec la consommation de 50 grammes de récolte par jour dans le scénario d'irrigation avec une eau dosée à 10 µg/litre de MCs.

Enfin, en termes de retard de croissance des plantes, la perte de biomasse des parties consommables par plant était d'autant plus forte que la concentration en MCs augmentait, pour atteindre 30 à 65 % pour les laitues, 20 à 45 % pour les carottes et 15 à 40 % pour les haricots verts (fig. A12).

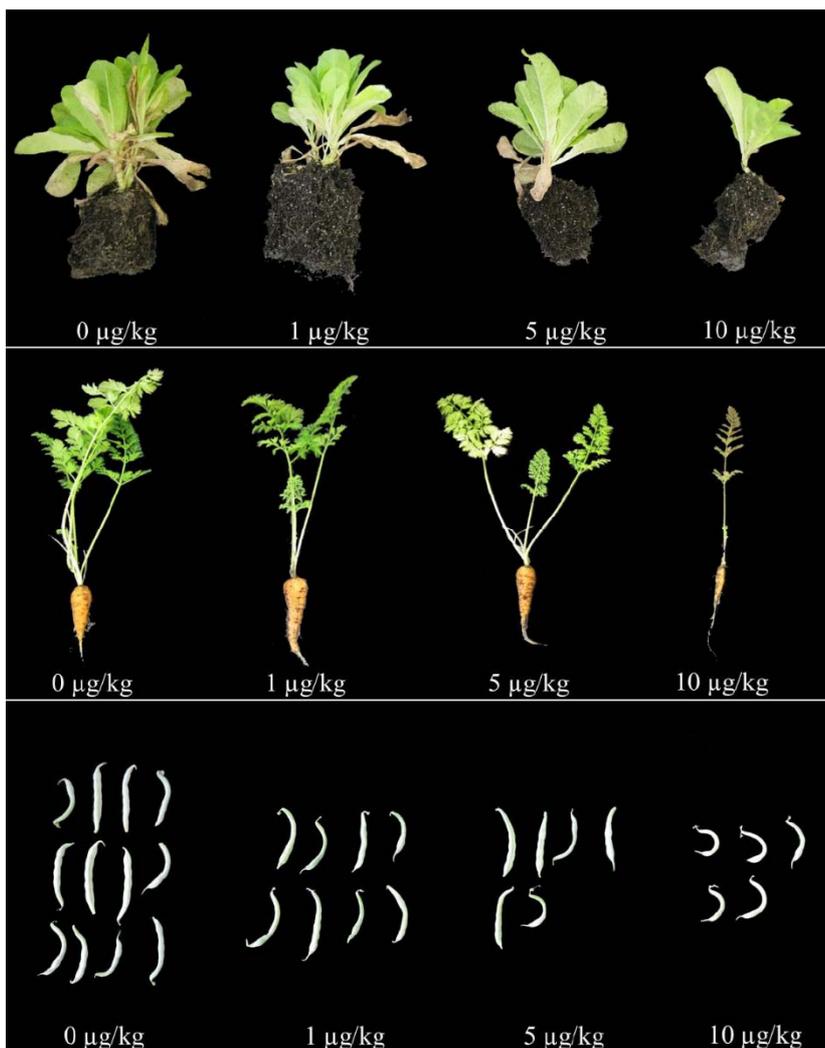


Fig. A12– Effet des MCs sur la croissance de plantes comestibles courantes (in Lee et al., 2017)

Les chiffres indiquent la concentration en MCs par masse d'eau d'irrigation ($\mu\text{g}/\text{kg} = \mu\text{g}/\text{litre}$ dans ce cas)

Ces résultats posent plusieurs questions: toutes les études s'accordent pour montrer une accumulation de toxines dépassant souvent les doses journalières admissibles pour des concentrations en MCs relativement faibles et similaires à celles qu'on observe couramment dans les lacs et cours d'eau de l'Ouest de la France. Dans l'hypothèse de cultures maraîchères en bordure de l'Erdre et irriguées avec de l'eau de la rivière, il serait peut-être nécessaire de demander la suspension de l'irrigation pour passer sur un arrosage avec de l'eau de puit ou du réseau en cas de présence de toxines.

Ensuite, toutes les études s'accordent aussi sur la perte de biomasse par unité des plantes arrosées avec de l'eau contenant des toxines. Pour les concentrations en MCs couramment rencontrées dans l'Erdre, de 1 à 5 $\mu\text{g}/\text{l}$, ces pertes correspondent à une baisse de rendement des cultures d'environ 15-20 %. On peut alors supposer que la réponse la plus simple à ce genre de perte soit une augmentation de l'engraissement des plants, d'où augmentation du lessivage de nutriments vers le cours d'eau, augmentation de l'eutrophisation, donc de la biomasse des cyanobactéries et des concentrations en toxines, donc accumulation de MCs dans les plantes et à nouveau perte de rendement etc... Ceci constitue un cercle vicieux potentiel dont il conviendrait d'évaluer l'importance.

B- Phytoplancton et Cyanobactéries

1- La composition actuelle du phytoplancton est-elle comparable avec celle des années écoulées ?

Reconstituer et discuter les chroniques de l'Observatoire de l'Erdre nécessite de choisir des paramètres descripteurs représentatifs de l'information recherchée. L'évolution des populations planctoniques et en particulier des cyanobactéries va en effet relever de plusieurs familles de facteurs (hydroclimatiques, physico-chimiques, biologiques) qui vont influencer, à différentes échelles, sur la composition floristique traduite par les relevés collectés depuis 2005.

Les paramètres habituellement utilisés pour décrire les populations planctoniques correspondent par ailleurs aux différentes étapes d'une analyse de dénombrement:

- Les effectifs de colonies: une colonie est le premier élément observé au microscope, et correspond à un ensemble d'une ou plusieurs cellules formant un 'individu', qui est la forme fonctionnelle normale de l'organisme identifié. Les effectifs de colonies, exprimés en individus par millilitre, étaient utilisés dans les SEQ Eau et Bio.
- Les effectifs de cellules: celles-ci sont les constituants des colonies, et varient d'une (algues unicellulaires, comme la plupart des Diatomées) à plusieurs centaines (comme de nombreuses Cyanobactéries telles que *Microcystis*). Les concentrations sont calculées en multipliant les effectifs de colonies par le nombre moyen de cellules par colonie pour chaque organisme identifié. Exprimées en cellules par millilitre, elles sont notamment utilisées pour la définition des seuils de qualité sanitaire dans les eaux de baignade.
- Le volume cellulaire ('biovolume'): il constitue un estimateur direct de la biomasse, c.a.d. de la quantité de matière vivante représentée par un ou plusieurs organismes. Il est obtenu en multipliant la concentration en cellules par le volume moyen des cellules de chaque organisme observé. Comme on considère que la masse volumique de la matière végétale est proche de 1, une unité de biovolume égale une unité de biomasse. Dans la pratique, ce paramètre n'est pas encore utilisé couramment dans les études de milieu aquatique; il présente cependant de nombreux avantages vis-à-vis de la qualité et de la quantité d'informations qu'il apporte:

1- A la différence des effectifs de colonies ou de cellules, la biomasse est directement proportionnelle aux concentrations en nutriments, et notamment aux teneurs de l'élément limitant qui est généralement le phosphore

On appelle 'nutriments' tous les éléments nécessaires à la croissance des producteurs primaires, c.à.d. tous les organismes capables de produire de la matière organique à partir d'un substrat minéral, et utilisant la lumière comme source d'énergie principale. Les nutriments majeurs sont les formes assimilables du phosphore (orthophosphates: PO_4), de l'azote (nitrates: NO_3 , ammoniacque: NH_4) et du carbone (gaz carbonique: CO_2 , bicarbonates: HCO_3^-).

A ces constituants principaux s'ajoutent des éléments mineurs intervenant dans la constitution de certains organismes (calcium et silice pour la formation de squelettes par exemple) et des oligoéléments nécessaires à certaines fonctions cellulaires: calcium, magnésium, potassium, fer, manganèse, soufre, cuivre, zinc, molybdène...

Quand ces éléments sont suffisamment disponibles dans le milieu pour permettre une croissance optimale, ils se combinent dans la proportion de 1 atome de phosphore (P) pour 16 atomes d'azote (N) et 106 atomes de carbone (C). Dans des conditions idéales, 1 gramme de phosphore et 7 grammes d'azote permettent la fixation de 47 grammes de carbone, ce qui correspond à la fabrication de 80 à 120 grammes de matière organique végétale sèche, soit environ 200 g de matière végétale fraîche.

1 g. P + 7 g. N + 47 g. C = 100 g. de poids sec = environ 200 g. de poids frais

Le concept d'élément limitant désigne celui des nutriments dont la disponibilité est la plus faible par rapport aux proportions idéales (1 P / 7 N / 47 C). En présence d'une limitation, la concentration en biomasse maximale qu'on peut obtenir en présence de suffisamment d'azote et de carbone sera directement proportionnelle à la concentration en Phosphore assimilable dans le milieu.

Utiliser la biomasse comme descripteur permet donc de raccrocher directement le résultat des relevés à la disponibilité en nutriments, ce qui n'est pas possible en utilisant uniquement les concentrations en colonies ou en cellules.

2- Utiliser la biomasse permet de rééquilibrer une vision des systèmes aquatiques qui peut être incomplète si on ne prend en compte que des effectifs de colonies ou de cellules.

Les différences d'ordre de taille des taxons observés dans l'Erdre depuis 2005 sont illustrées dans la figure B1. Il apparaît alors que les cyanobactéries, avec des volumes cellulaires compris entre 5 et 180 μm^3 /cellule, sont parmi les plus petites algues recensées, alors que les Chlorophycées et les Diatomées peuvent atteindre au maximum 72 000 ou 52 000 μm^3 /cellule pour les plus grosses d'entre elles.

Globalement, sur la base du volume cellulaire moyen des cyanobactéries présentes dans l'Erdre (72 μm^3 /cell.), les Xanthophycées et Chrysophycées sont en moyenne 6 à 10 fois plus grosses, les Chlorophycées 18 fois plus, les Diatomées 40 fois plus, et les Dinophycées et Euglènes de 58 à 70 fois plus.

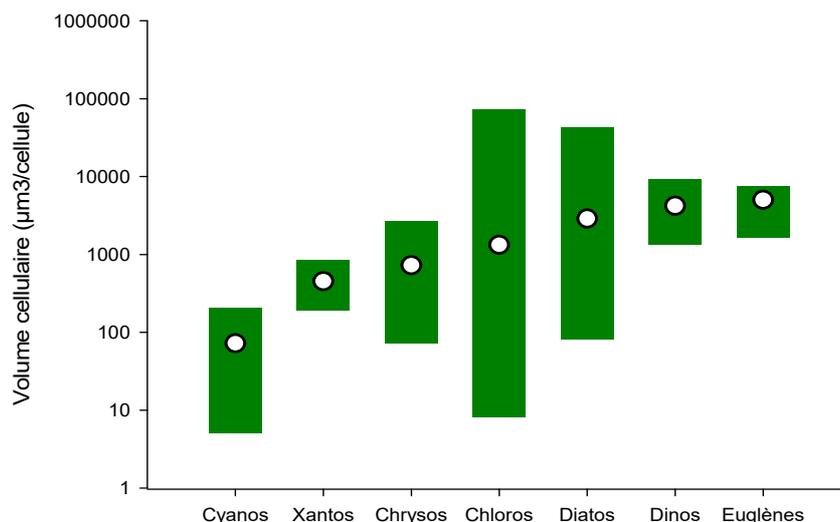


Fig. B1- Distribution par embranchement des classes de volume cellulaire pour les différents taxons présents dans les relevés de l'Observatoire: min-max en histogramme vert, moyenne représentée par le cercle blanc

En prenant les extrêmes des espèces de l'Erdre, on peut noter un écart d'un facteur 10 à 14 000 entre le volume de la plus petite Cyanobactérie et de la plus grosse Chlorophycée ou Diatomée. Ceci revient à dire qu'on aura la même biomasse pour 100 000 cell/ml de la plus petite Cyanobactéries ou pour 8 à 10 cell/ml des plus grosses Chlorophycées ou Diatomées. Or dans un cas on aura tendance à assimiler 100 000 cell/ml à une situation dégradée, puisque ceci correspond à un seuil d'alerte sanitaire, alors que dans l'autre on interprètera 10 cell/ml comme une situation de bonne qualité biologique puisque les effectifs en colonies ou en cellules sont faibles.

3- Pour chaque taxon, la biomasse maximale annuelle est proportionnelle à sa durée de présence.

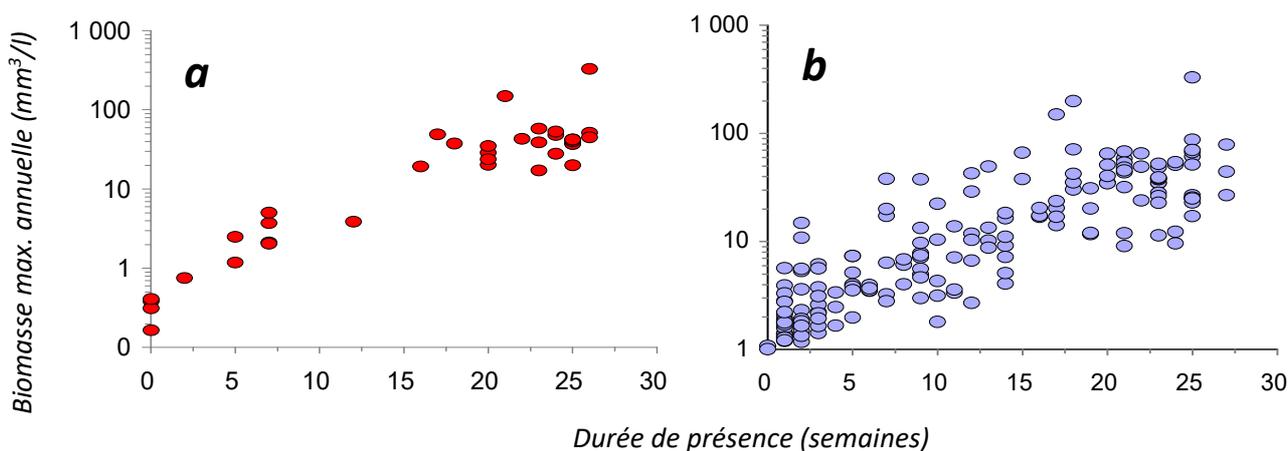


Fig. B2- Illustration de la relation entre biomasse planctonique et durée de présence dans l'Erdre pour les cyanobactéries (a) et l'ensemble des autres embranchements (b)

Il apparaît alors que l'ampleur de tout épisode annuel de développement d'une composante de la flore planctonique peut être résumée simplement à deux termes, durée et intensité, ce qui simplifie grandement la modélisation du phénomène. Cette observation a déjà été validée en Bretagne, en Mayenne et lors de l'étude du Vioreau. Si on filtre les données avec un seuil de coupure empirique à 0.1 mm³/litre pour les cyanobactéries et 1 mm³/ml pour l'ensemble des autres algues (les biomasses plus faibles sont considérées comme du bruit de fond), cette relation apparaît également valable pour l'Erdre, aussi bien pour les seules Cyanobactéries (fig. B2a) que pour l'ensemble des embranchements (fig. B2b).

Compte-tenu de ces différents avantages, la biomasse a été retenue comme principal descripteur des modes de fonctionnement des populations planctoniques dans l'Erdre. Tous les relevés de l'Observatoire, exprimés en cellules/ml, ont été convertis en biovolume à partir des banques de volume cellulaire de la base Phytobs ou des dimensions cellulaires déjà publiées pour les Cyanobactéries, avant de procéder à l'examen des chroniques des trois stations de Nort S/Erdre, Sucé s/Erdre et la Jonelière.

2- Que montre l'analyse des chroniques ?

Après conversion en biomasse, les relevés illustrent facilement les différences entre stations, notamment entre Nort s/Erdre d'une part, Sucé et la Jonelière d'autre part.

Si on regroupe les biomasses sous forme de moyenne, toutes années confondues (fig. B3), Nort héberge une flore composée à 8 +/- 12 % de cyanobactéries et 92 +/- 14 % d'autres embranchements, alors que Sucé et la Jonelière hébergent 39 +/- 16 % de cyanobactéries et 60 +/- 11 % d'autres taxons.

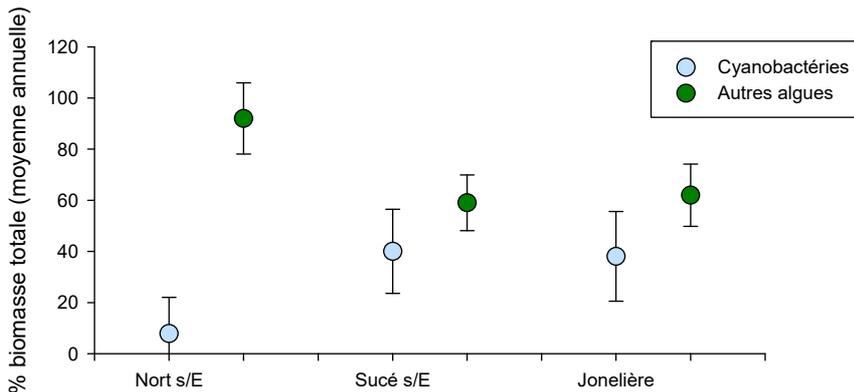


Fig. B3- Composition relative moyenne des biomasses planctoniques dans les 3 stations de l'Erdre

Plus spécifiquement, les taxons relevés à Nort s/Erdre (fig. B4) sont majoritairement des Chlorophycées (31 +/- 9 %) et des Diatomées (34 +/- 9 %), associés à des Chrysophycées (12 +/- 11 %) et des Cryptophycées (9 +/- 8 %), les Euglènes et Xanthophycées restant marginales avec 2 à 3 % du total. Les Cyanobactéries n'apparaissent donc qu'en cinquième position et occupent une place accessoire dans la flore.

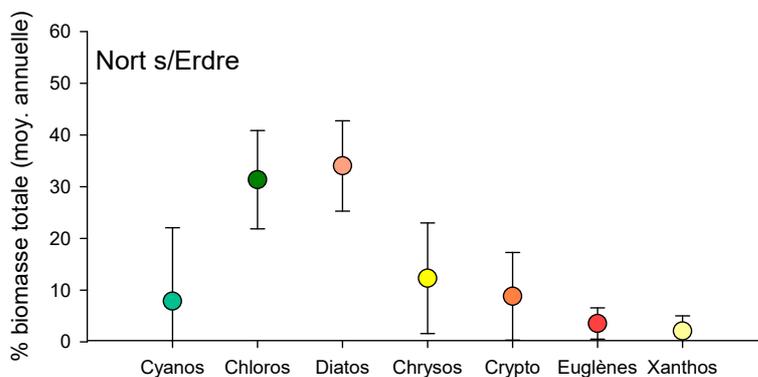


Fig. B4- Distribution moyenne de la biomasse planctonique par embranchement à Nort s/Erdre

La distribution des biomasses par embranchement de Sucé et la Jonelière sont quant à elles quasiment identiques (fig. B5), avec une relative dominance des Cyanobactéries (environ 40 +/- 16 %), suivies par les Chlorophycées et Diatomées (30 +/- 12 % et 18 +/- 8 % respectivement), les autres embranchements occupant une place plus faible qu'à Nort avec un maximum de 5 à 7 % pour les Chrysophycées, 5 % pour les Cryptophycées et moins de 1 % pour les Euglènes et Xanthophycées.

Les relevés de Carquefou et de Saint Félix n'ont pas été intégrés à cette analyse de distribution en raison de leur durée plus faible. Pour les années où ils peuvent être comparés, ils confirment cependant que la distribution de la biomasse est quasiment constante pour toutes les stations en aval de Nort s/Erdre, qui est la seule station pour laquelle des variations de composition peuvent être observées.

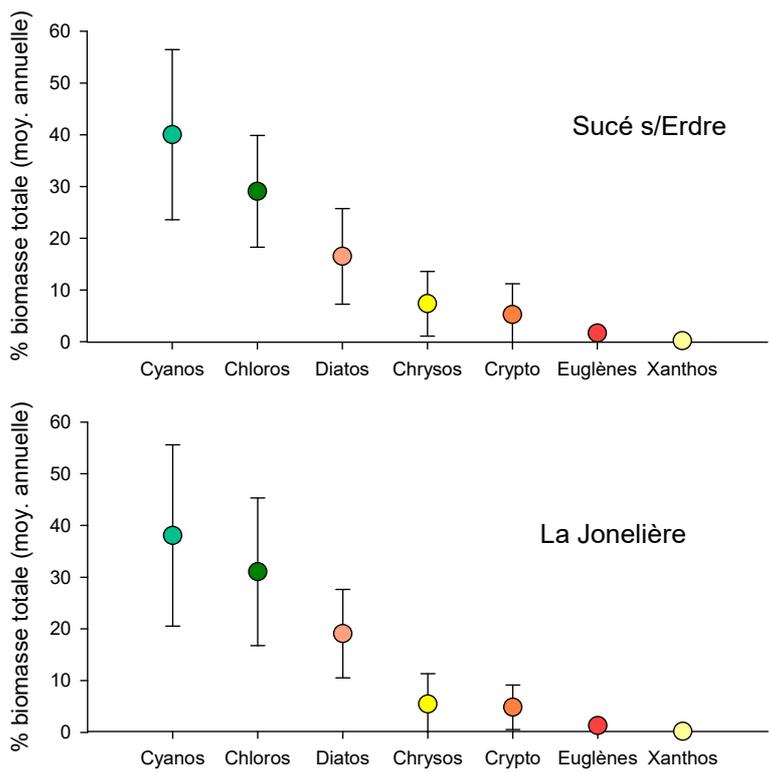


Fig. B5- Distribution moyenne de la biomasse planctonique par embranchement à Sucé s/Erdre et la Jonelière

21- Evolution interannuelle des biomasses

L'évolution interannuelle des biomasses peut être décrite au moyen de quantiles caractéristiques: le 10ème centile (bruit de fond), la médiane, le 90ème centile (valeurs élevées) et le maximum (caractéristique de la durée de présence du plancton). Là encore on peut observer un fonctionnement différent entre Nort d'une part, Sucé et la Jonelière d'autre part.

Le 10ème centile (fig. B6) représente les valeurs minimales rencontrées en fin de printemps. On peut noter que les valeurs maximales de ce centile sont rencontrées périodiquement (environ tous les 6 ans) en 2005, 2011 et 2017, années où les printemps étaient secs. Les fluctuations de biomasse entre minimales et maximales sont plus importantes en amont (ex Nort: de 0.1 à 1 voire 10 mm³/l) que dans les stations aval (de 10 à moins de 100 mm³/l à Sucé et la Jonelière).

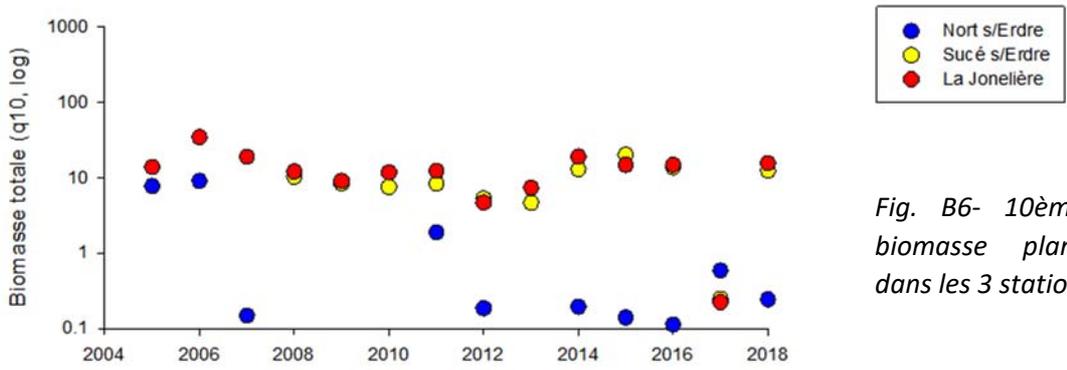


Fig. B6- 10ème centile de la biomasse planctonique totale dans les 3 stations de l'Erdre

La médiane (fig. B7), qui regroupe les valeurs intermédiaire, est en général recoupée en milieu d'été. Elle montre des variations similaires à celles du bruit de fond à Nort s/Erdre, mais quasiment aucune variation significative à Sucé et la Jonelière: les biomasses médianes des stations aval sont à la fois identiques chaque année, et quasiment constantes dans le temps (12 années sur 14).

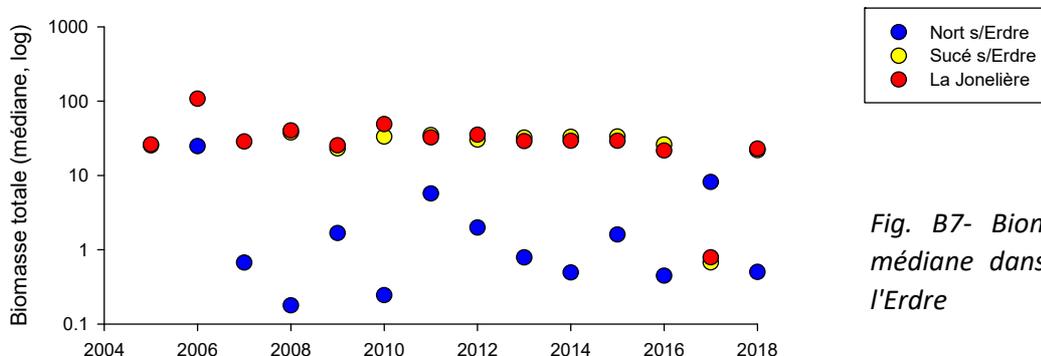


Fig. B7- Biomasse planctonique médiane dans les 3 stations de l'Erdre

Les quantiles suivants, rencontrés en fin d'été et début d'automne (biomasses saisonnièrement maximales: fig. B8), montrent une atténuation des variations interannuelles entre valeurs minimales et maximales à Nort s/Erdre, mais aussi que les biomasses de Sucé et de la Jonelière restent, comme les médianes, à la fois quasiment identiques entre stations et dans le temps.

On peut également noter que depuis 2008, les biomasses maximales observées à Nort s/Erdre ont suivi une augmentation lente mais quasi-continue (de 1 à 100 mm³/ml), alors que les maximales de Sucé s/Erdre et la Jonelière ont subi un recul net en 2017, ce qui est trop court pour être interprété comme une diminution durable.

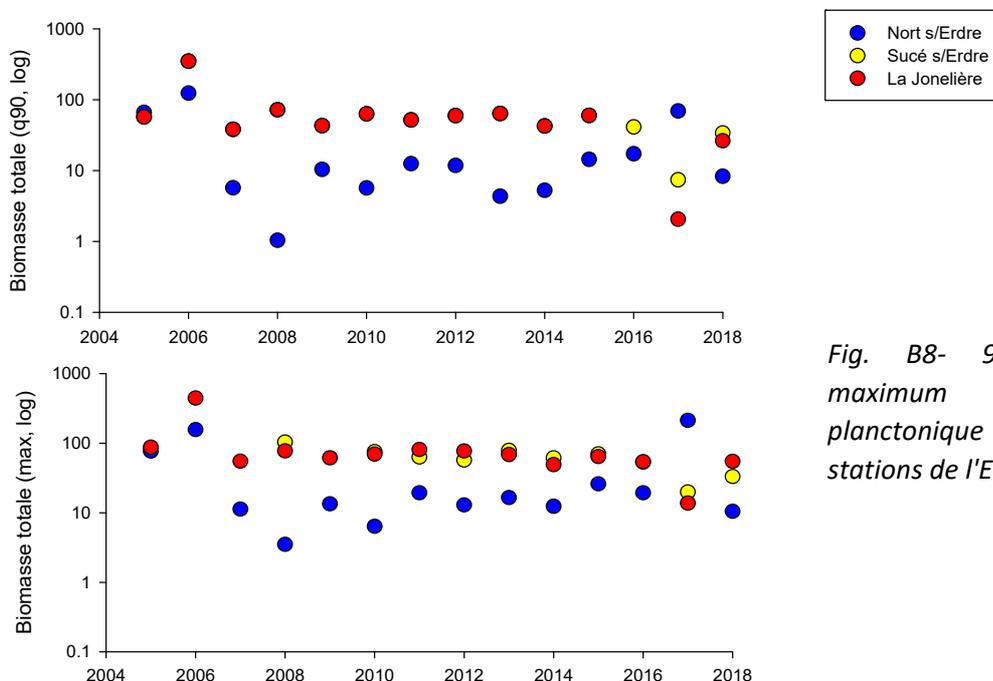


Fig. B8- 90ème centile et maximum de biomasse planctonique totale dans les 3 stations de l'Erdre

Les relations inter-quantiles, dans les deux groupes de stations, sont également intéressantes à examiner:

- A Nort s/Erdre, les variations de biomasse printanière (10ème centile) sont corrélées aux médianes ($r^2 = 0.88$), au 90ème quantile ($r^2 = 0.77$) et aux maximales ($r^2 = 0.73$).

Ceci indique que les variations des conditions printanières (météo, hydrologie, nutriments) vont se répercuter toute l'année à chaque étape de l'augmentation de la biomasse jusqu'à son maximum annuel.

- A Sucé et la Jonelière, les variations printanières sont encore corrélées aux médianes ($r^2 = 0.9$) et au 90ème centile ($r^2 = 0.73$), à des niveaux équivalents à ceux de Nort. Les maximales, par contre, ne sont plus corrélées au début de saison ($r^2 = 0.5$): quelles que soient les conditions du printemps, qu'elles soient favorables ou pas à une croissance optimale de la flore, les valeurs maximales n'en dépendent quasiment pas.

Comme ces maximales sont quasiment constantes dans le temps, ceci indique que les pointes de biomasse dépendent d'un (ou plusieurs) facteurs qui ne varient pas d'une année à l'autre, ont une valeur quasiment constante depuis le début de l'observatoire, et ne sont a priori pas de nature météorologique ou hydrologique.

22- Evolution saisonnière des biomasses

Vu les faibles variations interannuelles de biomasse au sein de chaque station, la distribution intra-annuelle de la biomasse planctonique a été illustrée par le pourcentage de biomasse totale occupé par chaque embranchement, semaine par semaine et toutes années confondues.

A Nort s/Erdre, le développement de la flore intervient en plusieurs épisodes très classiques et souvent décrits dans la littérature (fig. B9):

- La première phase à partir du début du printemps est dominée par les Diatomées, habituellement associées à des eaux fraîches, turbulentes et oxydantes. Celles-ci représentent alors de 55 à 60 % de la biomasse planctonique totale.

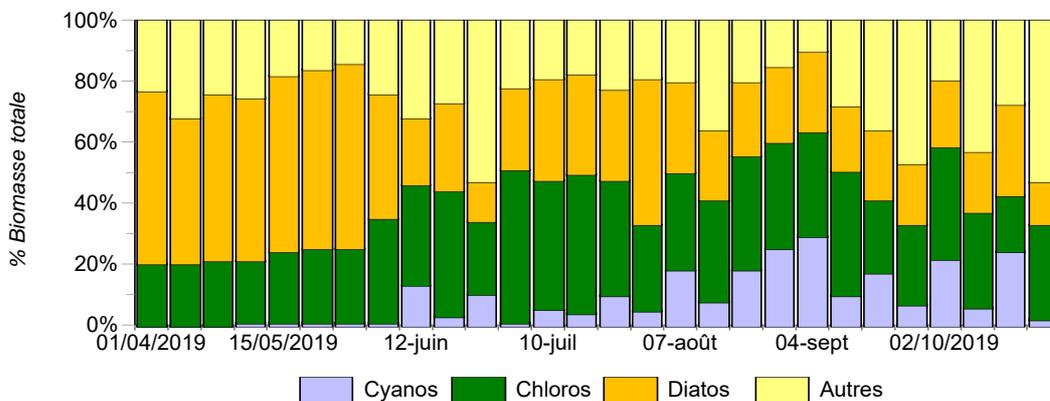


Fig. B9- Evolution intra-annuelle de la distribution moyenne des biomasses par embranchement à Nort s/Erdre depuis 2005

- La seconde phase, à partir du début de l'été, associe les Diatomées pour 20 à 30 % de la biomasse avec une nouvelle dominante, les Chlorophycées. Celles-ci sont connues pour être plus thermophiles que les Diatomées, et toujours tolérantes aux eaux oxydantes où l'azote est majoritairement sous forme nitrique. Leur biomasse atteint alors 35 à 50 % du total.

- La troisième étape correspond à l'expansion des Cyanobactéries, à partir de la fin juillet, pour culminer début septembre à 25-30 % de la biomasse.

Ces algues sont réputées très thermophiles et favorisées par les fortes chaleurs, ce qui n'est le cas que de quelques espèces rarement rencontrées dans l'Erdre. Par contre elles sont toutes favorisées par des eaux plutôt réductrices, chargées en matière organique dissoute, et où l'azote est majoritairement sous forme ammoniacale.

Pris séparément, chacun de ces épisodes peut être à nouveau découpé en 2 phases.

- **Les Diatomées** mobilisent 2 types de populations (fig. B10): une première phase, printanière, fait intervenir des espèces unicellulaires, souvent benthiques (*Cyclostephanos*, *Cyclotella*) et parfois de grande taille (*A. normanii* par exemple). Ces espèces unicellulaires possèdent un cycle de développement très court, adapté aux conditions variables du printemps, où la météo est souvent instable et les débits irréguliers.

Cette première phase est suivie par une chute de la biomasse puis une reprise en début d'été impliquant de nouvelles espèces, souvent coloniales, planctoniques et plus thermophiles que les premières (*Aulacoseira* principalement). Ce second épisode culmine début juillet avec près de 30 % de la biomasse totale, avant de décroître régulièrement jusqu'à la fin de l'automne.

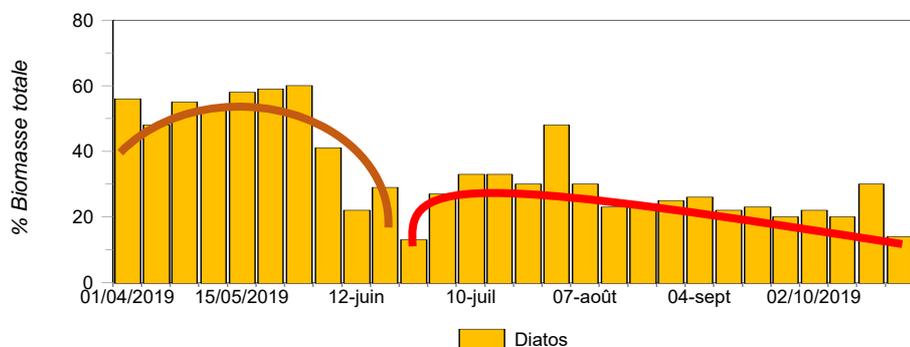


Fig. B10- Evolution de la distribution moyenne de la biomasse des Diatomées à Nort s/Erdre

- **Les Chlorophycées** suivent également une dynamique en deux phases (fig. B11): la première fait intervenir des espèces de faible biomasse, unicellulaires ou de petites colonies (4, 8 à 32 cellules): *Chlamydomonas*, *Scenedesmus*, *Kyrchneriella*, *Micractinium*... Comme pour tous les autres embranchements, les espèces de petite taille ont des taux de croissance élevés, ce qui les rend particulièrement adaptées à une expansion rapide pendant les périodes où les conditions hydro-météo fluctuent rapidement. Ce premier épisode atteint son maximum, soit 35 à 45 % de la biomasse totale, entre début et mi-juillet.

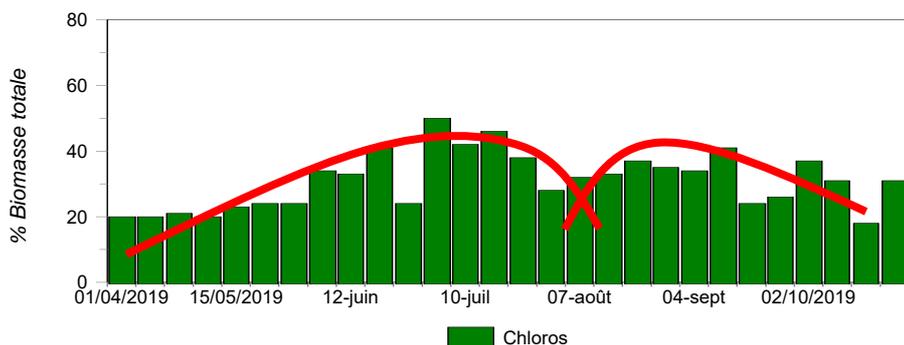


Fig. B11- Evolution de la distribution moyenne de la biomasse des Chlorophycées à Nort s/Erdre

Le second épisode mobilise des espèces coloniales plus thermophiles et de plus grande taille (*Sphaerocystis*, *Pediastrum*, *Eudorina* et *Pandorina*...), voire en fin de succession de très grosses unicellulaires (Zygothécées telles que *Closterium* et *Staurastrum*). On trouve également encore de fortes biomasses de petites Chlorophycées unicellulaires qui trouvent des créneaux favorables au cours des épisodes orageux du mois d'août. Cette seconde phase atteint son pic entre mi-août et début septembre, avec 25 à 40 % de la biomasse totale, avant de régresser lentement vers un minimum de 20 % courant octobre.

- **Les Cyanobactéries**, du fait de leur biomasse minimale dans cette station, ont une évolution plus discrète (fig. B12). Le premier épisode printanier, notamment n'apparaît qu'à quelques occasions sur 15 ans. Il est représenté à la fois par des espèces de petit volume cellulaire à fort taux de croissance (*Aphanothece*, *Merismopedia*), par des espèces benthiques arrachées à leur substrat par les à-coups de débit (*Jaaginema*, *Oscillatoria*), et par des espèces planctoniques équipées pour supporter les eaux fraîches et oxydantes du début de l'été: des Nostocales telles qu'*Aphanizomenon* et *Anabaena/Dolichospermum*. Ce premier épisode, de faible amplitude, atteint un maximum moyen de 10-13 % de la biomasse totale mi-juin.

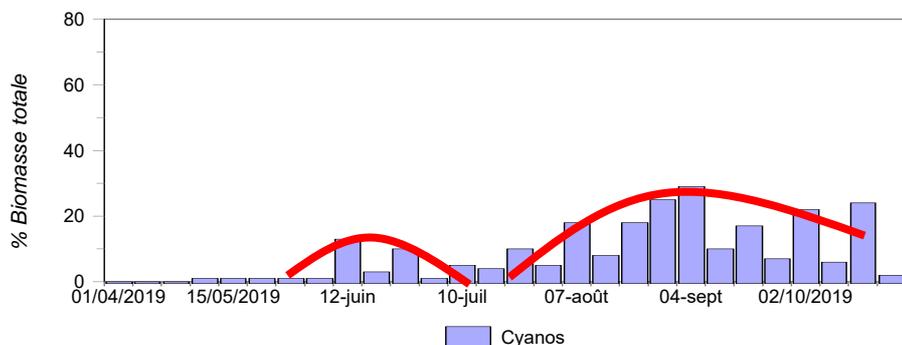


Fig. B12- Evolution de la distribution moyenne de la biomasse des Cyanobactéries à Nort s/Erdre

Le second, plus étalé dans le temps, intervient de début août à fin octobre et fait intervenir à la fois des espèces thermophiles qui restent minoritaires (*Microcystis*, *Anabaena/Dolichospermum* de grandes taille) et des espèces filamenteuses, dominantes, qu'on retrouve par ailleurs dans toutes les autres stations de l'Erdre: *Planktothrix agardhii* et *isothrix*. Celles-ci ont comme caractéristique principale une très grande souplesse adaptative: elles préfèrent les eaux de température intermédiaire à chaude, un faible éclaircissement compatible avec des eaux turbulentes, peu profondes et turbides, et leur taux de croissance est suffisamment rapide pour supporter les eaux qui se renouvellent souvent, ce qui peut être le cas dans ce secteur amont qui est encore sous influence fluviale.

Cet épisode tend vers un maximum début septembre avec 25 à 29 % de la biomasse totale, et peut se maintenir jusqu'en fin de suivi, la souplesse des *Planktothrix* leur permettant de suivre le rafraîchissement saisonnier des eaux.

- **Les embranchements restants**, minoritaires, occupent une place significative avec 20 à 40 % du total quand on additionne leurs biomasses respectives (fig. B13). Ils sont composés d'espèces à optimum varié, depuis les eaux fraîches, acides et turbulentes du printemps (Chrysophycées, Xanthophycées) aux eaux chaudes et chargées en matière organique de la fin d'été (Euglènes).

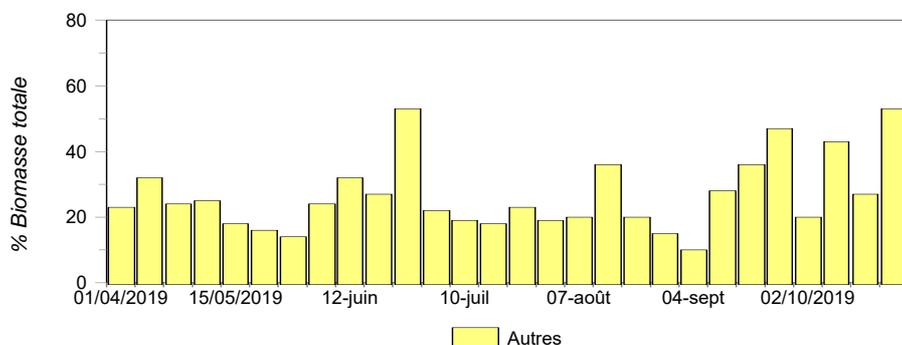


Fig. B13- Evolution de la distribution moyenne de la biomasse cumulée des groupes mineurs à Nort s/Erdre

Apparemment peu compétitifs dans les conditions de l'Erdre, ils ne développent pas de dynamique d'expansion spécifique mais exploitent plutôt les créneaux de 1 à 2 semaines laissés libres entre les successions des embranchements majeurs, notamment entre les phases printanières et estivales des Diatomées et Chlorophycées, puis en fin de suivi.

Au cours de ces différents pics, leur biomasse peut atteindre jusqu'à 52 % de la biomasse fin juin (régression des Diatomées printanières), jusqu'à 36 % mi-août (régression du premier épisode à Chlorophycées), et de 36 à 53 % entre mi-septembre et fin octobre (régression conjointe des Diatomées, Chlorophycées et Cyanobactéries).

A la Jonelière, la dynamique du phytoplancton (fig. B14) est beaucoup plus simple et régulière notamment grâce à la diminution de l'amplitude des épisodes à Diatomées et à embranchements mineurs. Sucé s/Erdre n'a pas été représenté en raison de la plus courte durée temporelle du suivi.

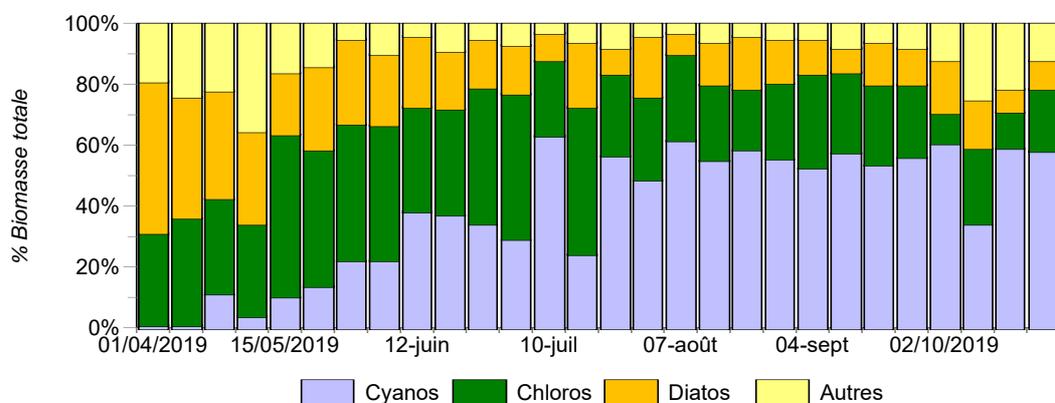


Fig. B14- Evolution intra-annuelle de la distribution moyenne des biomasses par embranchement à la Jonelière depuis 2005

- **Les Diatomées** présentent pourtant bien les 2 types de populations observés à Nort (fig. B15), avec une phase initiale dominée par des espèces unicellulaires (*Cyclotephanos* et *Cyclotella*), puis une phase estivale mobilisant des espèces coloniales filamenteuses (*Aulacoseira*). Leur amplitude reste par contre très faible, avec une biomasse cumulée significativement plus faible qu'à Nort et toujours décroissante du début à la fin du suivi: leur part passe ainsi de 50 % de la biomasse totale début avril à 12-18 % du total fin octobre

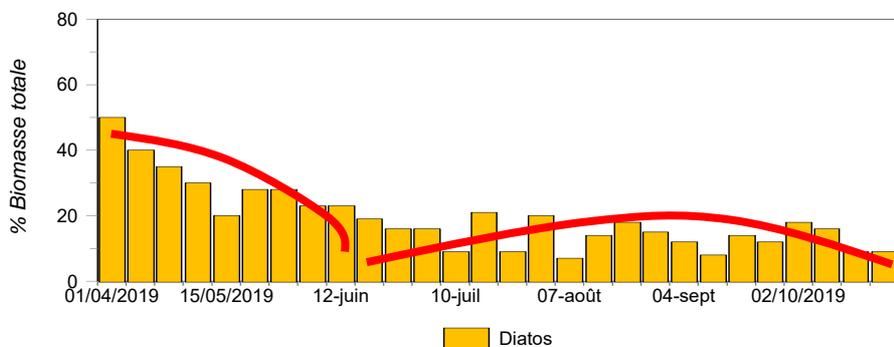


Fig. B15- Evolution de la distribution moyenne de la biomasse des Diatomées à la Jonelière

- **Les Chlorophycées** suivent là aussi un développement en deux phases (fig. B16). La première mobilise à nouveau des espèces de faible biomasse, unicellulaires et petites coloniales (*Scenedesmus*, *Chlamydomonas*, *Oocystis*...). L'amplitude et la durée sont plus importants qu'à Nort s/Erdre, puisque les maximales atteignent 45 à 55 % de la biomasse planctonique de mi-mai à début juillet.

Le second épisode, qui atteint son maximum début septembre, ne fait pas intervenir d'espèces coloniales à croissance plus lente, comme c'est le cas à Nort.

Au lieu de ça, on retrouve une nouvelle phase dominée par les opportunistes de petite taille. Ceci indique que le milieu est fortement contraint par les nutriments, notamment le phosphore mais aussi l'azote nitrique (c'est courant en fin de saison). Des espèces à croissance rapide et de faible biomasse sont alors mieux adaptées à un milieu où les nutriments sont réintroduits sporadiquement, au gré des pluies ou des relargages depuis les sédiments.

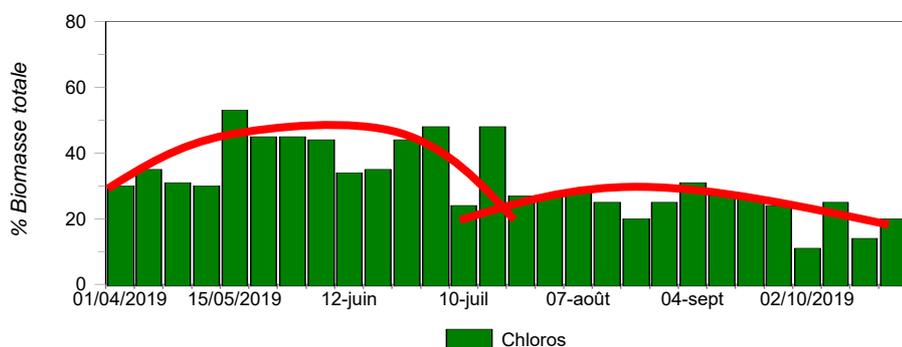


Fig. B16- Evolution de la distribution moyenne de la biomasse des Chlorophycées à la Jonelière

- **Les Cyanobactéries** présentent par contre un développement en 2 phases, cette fois-ci bien visibles (fig. B17). Ces phases sont à la fois plus précoces et plus longues qu'à Nort: les Cyanobactéries sont observables quasiment chaque année dès avril, et atteignent des biomasses souvent significatives dès le mois de Mai.

Le premier épisode, dont l'amplitude et la durée sont les plus courts, est constitué des mêmes types d'espèces qu'à Nort: petites coloniales de faible volume cellulaire, espèces benthiques, Nostocales, avec ponctuellement déjà des *Planktothrix*. Il peut atteindre un maximum de 4 à 38 % de la biomasse totale fin juin.

Après une régression rapide, ces taxons sont complétés par les *Planktothrix*, qui prennent rapidement le pas sur les autres espèces pour constituer 55 à 65 % de la biomasse totale de début août à fin octobre.

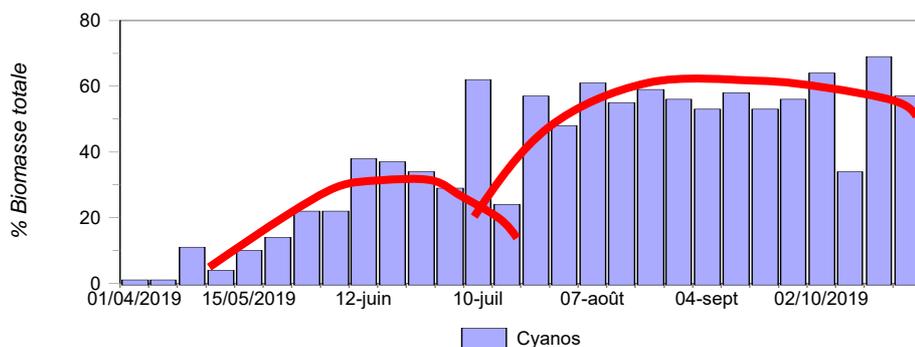


Fig. B17- Evolution de la distribution moyenne de la biomasse des Cyanobactéries à la Jonelière

Cet état de dominance peut se maintenir très tard en saison, leur optimum thermique (environ 20°C) leur permettant de se maintenir y compris en automne. Dans la pratique, seul un renouvellement rapide des eaux lié à une reprise des pluies automnales paraît apte à mettre un terme à leur présence, comme le montre le suivi les années où il a été étendu à novembre ou décembre.

- **Les embranchements mineurs**, enfin, n'ont que peu de latitude pour exploiter les créneaux entre Diatomées et Chlorophycées, ceux-ci étant déjà occupés depuis le printemps par les Cyanobactéries (fig. B18). On ne va donc les retrouver que très précocement, en avril et début mai où ils représentent jusqu'à 35 % de la biomasse, puis très tardivement à partir de mi-octobre où ils peuvent atteindre 25 % du total. Dans les deux cas leur contribution est relativement plus faible qu'à Nort, y compris en tout début et toute fin de suivi, quand ils ont peu de concurrence.

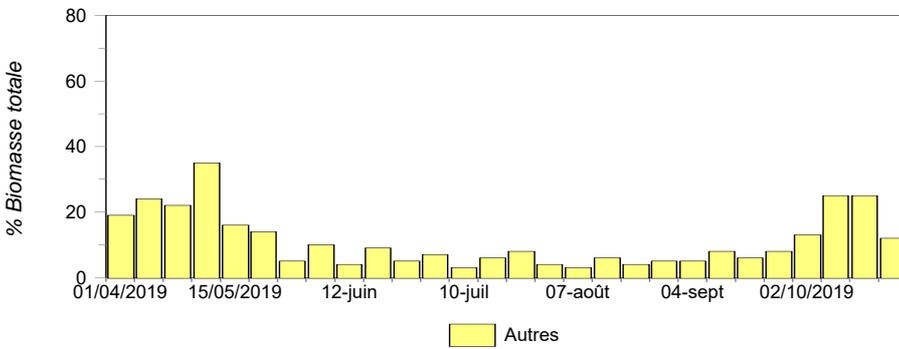


Fig. B18- Evolution de la distribution moyenne de la biomasse des embranchements mineurs à la Jonelière

3- La biodiversité du phytoplancton de l'Erdre s'est-elle maintenue au fil du temps ou a-t-elle souffert d'une prépondérance de certaines espèces ?

Parmi les différents indicateurs de biodiversité, nous avons retenu l'indice de Shannon pour conserver la continuité avec les données déjà disponibles dans l'Observatoire. Cet indice a été calculé à partir des occurrences sommées chaque année sur la durée complète du suivi.

Comme pour les biomasses, il apparaît encore une différence nette entre Nort s/Erdre, où la contribution des différents embranchements reste équilibrée d'une année sur l'autre, et les 2 stations aval, où la diversité est faible quel que soit le groupe considéré.

- Nort (fig. B19) montre une évolution à nouveau quasi-périodique avec des années de diversité maximale (1.3 à 1.5 bits) puis minimale (0.7 à 0.8 bits) sous forme de séries régulières telles que 2007, 2010, 2014, 2016. Celles-ci sont entrecoupées d'années de forte diversité placées irrégulièrement au sein de la série comme 2011 et 2017.

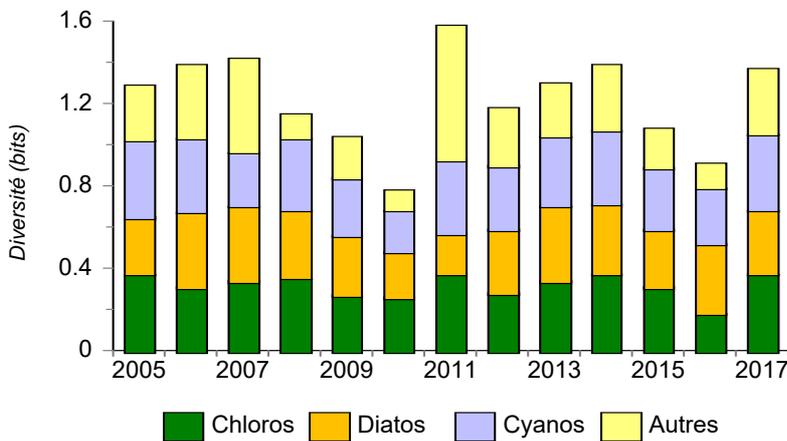


Fig. B19- Evolution de la diversité annuelle à Nort s/Erdre depuis 2005

- Sucé s/Erdre montre une diversité décroissante de 2008 à 2017 (fig. B20). Les années antérieures n'ayant pas été suivies, il est impossible de préciser si les années de plus forte diversité (2008 et 2010) sont des cas isolés ou illustrent une tendance lourde dans cette station.

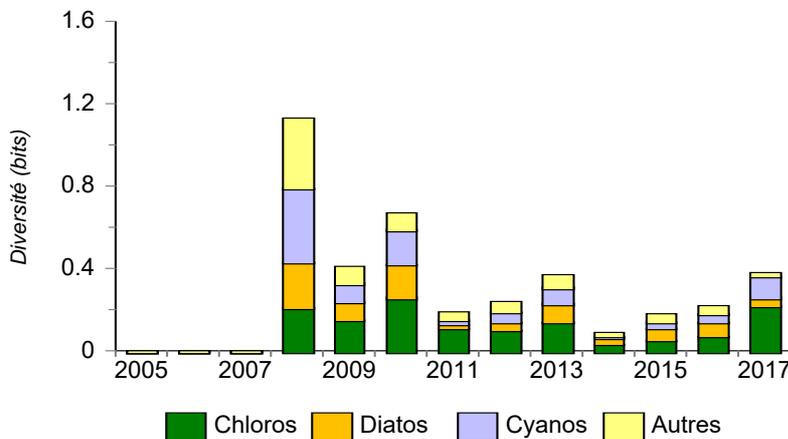


Fig. B20- Evolution de la diversité annuelle à Sucé s/Erdre depuis 2008

- La Jonelière (fig. B21) présente systématiquement une diversité plus faible qu'à Nort s/Erdre (de 0.2 à 0.7 bits) dont les variations entre minimales et maximales sont parallèles à celles de Sucé s/Erdre à partir de 2008, ce qui laisse supposer que la flore de Sucé suivait la même tendance pour les années antérieures au début de son suivi.

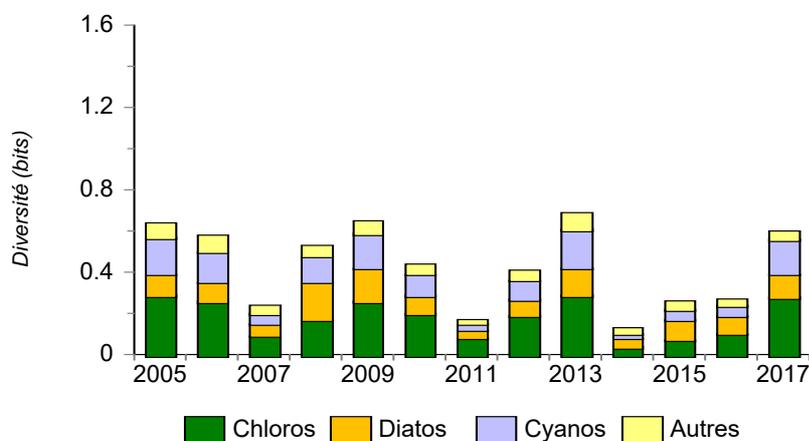


Fig. B21- Evolution de la diversité annuelle à la Jonelière depuis 2005

- Dans tous les cas, la diversité suit en général une relation décroissante comparée à la biomasse (fig. B22), tant pour les biomasses totales que pour celles de chaque embranchement pris individuellement. C'est un résultat attendu, puisqu'on associe souvent les fortes biomasses à des proliférations planctoniques quelle que soit l'espèce en cause, et donc à une perte de diversité.

Le suivi de l'Erdre montre cependant que ce n'est pas systématique, et qu'on rencontre fréquemment des années pour lesquelles on observe à la fois des faibles biomasses (1 à 10 mm³/l) et des faibles diversités (< 0.4 bits).

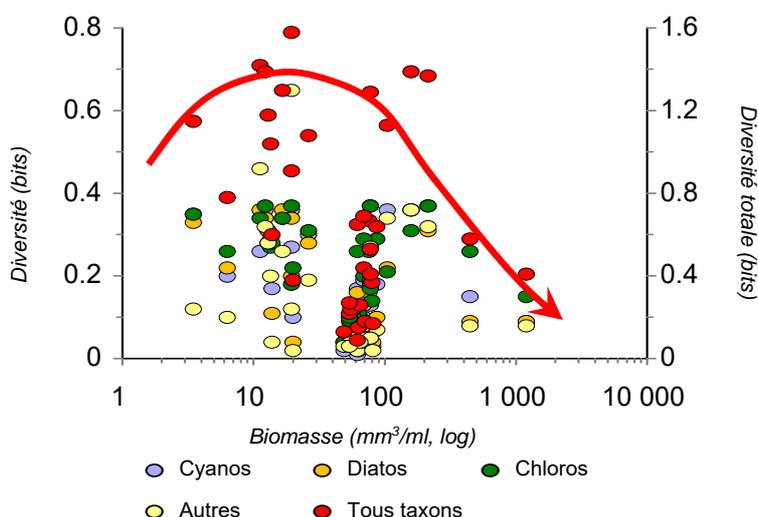


Fig. B22- Relation entre diversité annuelle et biomasse planctonique (totale ou par embranchement) dans les 3 stations de l'Erdre depuis 2005

Plus étonnant, tous les indices de diversité sont positivement corrélés (tab. B1), et avec des coefficients importants: de 0.8 à 0.9 entre embranchements, et de 0.9 à 0.98 vis à vis de la diversité totale.

Ceci signifie que contrairement à ce qu'on pouvait attendre, la coexistence d'embranchements différents ne se traduit pas, à l'échelle d'observation annuelle, par une perte de diversité au profit de l'un ou l'autre groupe.

Au contraire, les facteurs favorable à la diversité dans l'Erdre profitent simultanément à tous les embranchements à la fois, même s'ils contribuent différemment à la diversité totale de la flore planctonique.

On peut même noter que l'embranchement le mieux corrélé à la diversité totale est celui des cyanobactéries ($r^2 = 0.98$), ce qui indique que les variations de diversité totale sont exactement parallèles aux variations de diversité des Cyanobactéries.

	Chloros	Diatos	Cyanos	Autres	Div. totale
Chloros	1.00				
Diatos	0.76	1.00			
Cyanos	0.89	0.91	1.00		
Autres	0.68	0.71	0.80	1.00	
Div. totale	0.90	0.91	0.98	0.88	1.00

Tab. B1- Matrice de corrélation entre les indices de Shannon par embranchement ou totaux, toutes stations et années confondues depuis 2005

Deux autres points méritent d'être relevés vis à vis des relations entre biomasse et diversité:

- Tout d'abord, comme pour la diversité, les biomasses par embranchement sont positivement corrélées entre elles et avec la biomasse totale, bien que ce soit avec des coefficients plus faibles (r^2 de 0.4 à 0.8). Ceci indique, là encore, que les facteurs favorable à la production primaire d'un groupe sont globalement favorable à tous les autres simultanément, et que les biomasses de chaque embranchement tendent à évoluer dans le même sens quand elles sont soumises à des conditions variables.

- Ensuite, si on regarde les corrélations entre biomasse et diversité (tab. B2), par embranchement ou totale, on note qu'elles sont toutes négativement corrélées. Pour les embranchements eucaryotes (Chlorophycées, Diatomées, etc...) ces corrélations sont faibles (r^2 de 0.1 à 0.5) et peu ou pas significatives, mais leur signe indique bien une influence, même limitée, tendant vers une baisse de la diversité globale quand la biomasse d'un groupe augmente au détriment des autres.

	BM Cyanos	BM Chloros	BM Diatos	BM Totale
Div. Chloros	-0.64	-0.18	-0.10	-0.31
Div. Diatos	-0.75	-0.52	-0.21	-0.42
Div. Cyanos	-0.69	-0.35	-0.11	-0.33
Div. Autres	-0.61	-0.29	-0.15	-0.22
Div. Totale	-0.73	-0.37	-0.15	-0.34

Tab. B2- Tableau de corrélation entre les indices de Shannon (Div.) et la biomasse (BM.) par embranchement ou totaux, toutes stations et années confondues depuis 2005

Dans le cas des Cyanobactéries par contre, les corrélations sont toujours négatives mais à la fois fortes et significatives, avec des r^2 de -0.6 à -0.75. Ces relations sont illustrées dans la fig. B23, et montrent que les cyanobactéries, à la différence des autres algues, ont un impact majeur sur la diversité du phytoplancton de l'Erdre.

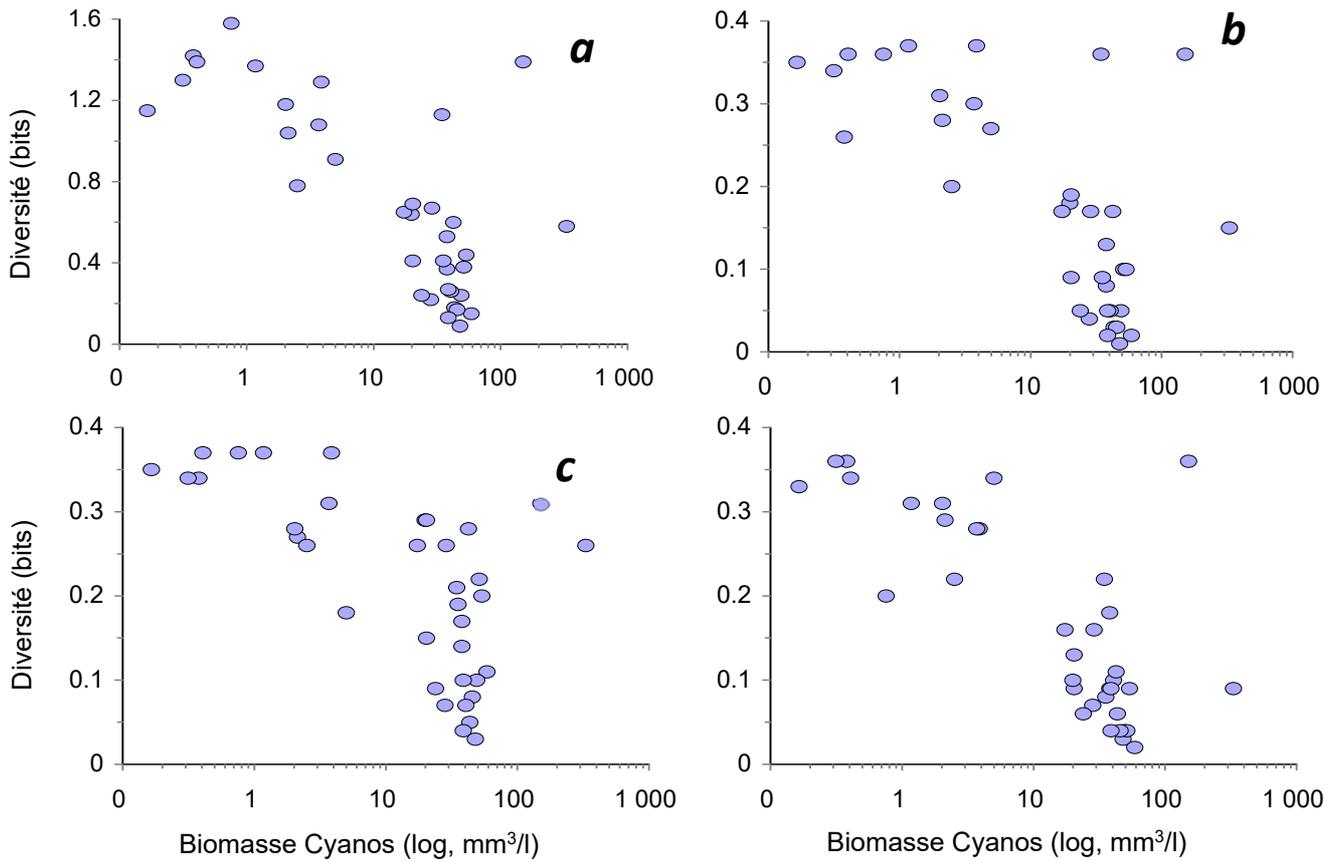


Fig. B23- Relation entre biomasse des cyanobactéries (toutes espèces confondues) et diversité totale annuelle (a) ou diversité des Cyanobactéries (b), des Chlorophycées (c) et des Diatomées (d) depuis 2005

Après régression (pour illustration, fig. B24) et représentation sur une même figure, il apparaît que, tout d'abord, diversité et biomasse évoluent vers un optimum proche de 1 mm³/l de cyanobactéries (soit environ 1 mg/l de poids frais). Au-delà, on observe une chute rapide de la diversité. Cette chute est maximale pour les embranchements accessoires (Cryptophycées, Euglènes, Xanthophycées...), plus lente pour les Diatomées et Cyanobactéries, et un peu plus limitée pour les Chlorophycées.

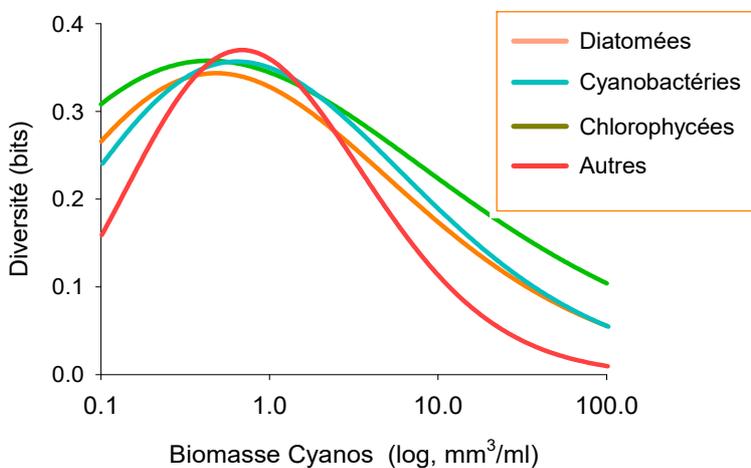


Fig. B24- Relation synthétique entre biomasse des cyanobactéries (toutes espèces confondues) et diversité des embranchements rencontrés dans l'Erdre

A plus petite échelle temporelle, cet effet sur la diversité est également visible chaque année au travers des relevés hebdomadaires (fig. B25) et confirme un effondrement de la diversité planctonique au-delà d'une biomasse de cyanobactéries supérieure à 1 mm³/l. Cette chute est plus sensible dans les stations aval, où la flore est dominée par les seuls *Planktothrix*, qu'à Nort, où les cyanobactéries sont plus diversifiées.

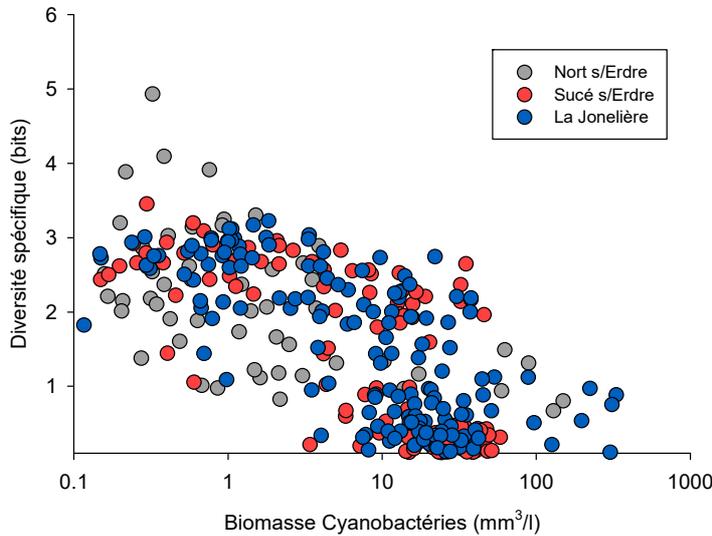


Fig. B25- Relation entre biomasse des cyanobactéries (toutes espèces confondues) et diversité des embranchements rencontrés dans l'Erdre (données hebdo 2005-2017)

Ceci confirme que dans un premier temps diversité et biomasse profitent de concert des conditions favorables de l'environnement. Ces conditions 'favorables' peuvent être définies comme un résultat croissant pour la somme des paramètres Température + Phosphore + Temps de séjour (voir chapitre D). S'agissant de bilans annuels, elles peuvent être mises en évidence sur des séries telles que 2002-2006 ou 2015-2020 : dans ce cas la biomasse maximale des cyanobactéries sera croissante d'année en année, ce qui implique une apparition plus précoce et une disparition plus tardive, et se traduit par une diversité planctonique qui s'effondre un peu plus tôt chaque année.

A l'échelle intra-annuelle, sur base hebdomadaire, l'interprétation est similaire : une année sera d'autant plus 'favorable' aux cyanobactéries que température, disponibilité du phosphore et temps de séjour augmenteront tôt, ce qui se traduira par une émergence plus rapide des *Planktothrix* et un effondrement plus précoce de la diversité des autres taxons.

Cette influence des cyanobactéries sur la diversité de tous les groupes, y compris les Cyanobactéries elles-mêmes, peut être expliqué de plusieurs façons:

- *Effet calendrier*: les Diatomées, Chryso- et Xanthophycées sont plutôt des algues associées à des eaux fraîches, turbulentes et oxygénées, donc attendues en début de saison (printemps et début d'été). Leur disparition peut donc précéder l'émergence des Cyanobactéries, et peut être d'autant plus rapide que les conditions sont favorables à une croissance rapide de la biomasse des Cyanos.

- *Effet compétition*: les Cyanobactéries sont connues pour être compétitives pour le phosphore, et exploitent des formes d'azote inaccessibles aux autres algues. Là aussi, l'augmentation de leur biomasse au détriment de la diversité des autres embranchements peut être liée à une succession temporelle de conditions chimiques.

Pourtant les résultats du suivi montrent qu'il existe une majorité de cas où faible biomasse et faible diversité sont observées simultanément. Ils montrent aussi que quand les conditions du milieu sont favorables à une augmentation de diversité ou de biomasse, tous les embranchements ont tendance à réagir dans le même sens. On devrait donc pouvoir observer une majorité de cas où l'augmentation de la biomasse ou de la diversité des cyanobactéries s'accompagne d'une augmentation parallèle de la diversité des autres embranchements.

La fig. B23 montre clairement que ce n'est pas le cas, y compris au sein des seules Cyanobactéries: ce cas de figure concerne tout au plus 20-25 % des observations.

Enfin on doit noter que ce seuil de chute de la diversité, 1 mm³/l, est très bas comparé aux effectifs de Cyanobactéries en jeu: pour les espèces les plus courantes dans l'Erdre, il correspond à des densités de 10 à 15 000 cell/ml. Ces valeurs sont proches de la biomasse médiane à Nort s/Erdre, et près de 10 fois plus faibles que le 10^{ème} centile des biomasses de Sucé s/Erdre et la Jonelière, ce qui paraît trop faible pour que la compétition soit effective. Il est alors possible de faire intervenir une troisième hypothèse.

- *Effet allélopathie*: les Cyanobactéries livrent une lutte biologique acharnée contre leurs compétiteurs, aussi bien d'autres embranchements qu'entre elles. Si cette lutte est connue depuis de nombreuses années, on commence tout juste à en explorer les mécanismes.

Dans ses travaux sur des cultures de Cératophylle, Myriophylle, Cladophora et leurs épiphytes respectifs, G.P. Fitzgerald notait en 1969 que '*des associations de certaines algues avec des bactéries présentent une toxicité sélective pour d'autres espèces d'algues sous certaines conditions environnementales*'.

Ces travaux ont surtout été développés dans les années 80-90 pour explorer les relations entre hydrophytes, ou hydrophytes et phytoplancton. En 1989 par exemple, Elakovich et Wooten publiaient une liste de 16 plantes aquatiques courantes montrant un effet inhibiteur quantifiable sur la croissance des lentilles d'eau. Dans une revue de littérature datée de 1993, Gopal et Goel recensaient 53 études (remontant jusqu'à 1928) montrant un impact de l'allélopathie entre macro et microphytes, ou entre microphytes (phytoplancton) entre eux, induisant une réduction de leurs taux de croissance hors conditions de compétition pour les nutriments.

Les années 2000 ont vu les premiers travaux cherchant à utiliser les populations d'hydrophytes dans la protection des lacs contre les proliférations de cyanobactéries (et plus généralement les proliférations de phytoplancton), voir par exemple van Donk et al. (2002) ou Hilt et al. (2006).

Les molécules en jeu sont de nature variée selon les taxons impliqués: acides gras (Nakai et al. 2005), polyphénols et autres molécules aromatiques (Erhard et al. 2006); peptides et toxines cyanobactériennes (Granelli et Hansen 2006); terpènes, flavonoïdes et plus généralement huiles essentielles (Xian et al. 2006, Maciel Mattos de Oliveira et al. 2012, Zerrifi et al. 2020)...

Les relations entre Cyanobactéries et autres compartiment du phytoplancton ont également été étudiées, mais souvent au cours d'essais en culture pure où chaque espèce étudiée est mise en contact avec une seule espèce-cible à la fois (par exemple dans Zak et al. 2011 ou Barreiro et Vasconcelos 2012). Les effets sont très variables, les inhibitions d'espèces cibles ne sont pas systématiques, mais en général il existe un certain consensus scientifique sur l'existence de ces effets.

Des essais interspécifiques impliquant des Cyanobactéries invasives et/ou potentiellement toxiques ont enfin montré qu'outre la lutte à destination des autres embranchements, les sous-produits métaboliques de chaque espèce de Cyanobactéries pouvaient influencer sur le développement des espèces concurrentes, par exemple entre *Planktothrix agardhii* et *P. rubescens* (Oberhaus et al. 2008), entre *C. raciborskii* et *M. aeruginosa* (Rzymiski et al., 2014) ou entre *P. agardhii* et *M. aeruginosa* (Briand et al. 2018).

Pourtant si ces interactions ont été mises en évidence en laboratoire, leur impact réel sur le terrain n'a pas été évalué précisément et fait toujours l'objet de spéculations pour estimer leur importance relative en comparaison des mécanismes de compétition pour les nutriments ou la lumière.

Ce type d'interactions pourrait cependant expliquer l'effet seuil observé sur les fig. B23 à B25, indiquant la biomasse maximale de Cyanobactéries à atteindre dans le milieu pour que la concentration en molécules actives soit insuffisante pour avoir un impact sur les autres espèces. Il expliquerait aussi pourquoi cet effet, visible à Nort sur Erdre, y apparaît beaucoup plus progressif: la biomasse des Cyanos y est généralement plus faible que dans les deux autres stations, ce qui limite leur impact sur la diversité totale.

Les implications de ces observations sont relativement importantes: on associe généralement les proliférations de Cyanobactéries à leur bonne compétitivité pour le phosphore, et à des taux de croissance importants sous température élevée.

Or, au vu des données de l'Observatoire, quand on compare les biomasses de tous les embranchements à celles des Cyanobactéries, il apparaît que celles-ci prennent le dessus à partir de niveaux 10 à 100 fois plus élevés que les $1 \text{ mm}^3/\text{l}$ qui entraînent la chute de la diversité du plancton de l'Erdre.

On peut donc supposer que le potentiel invasif des Cyanobactéries se déploie en 3 temps:

- 1- élimination chimique du maximum de concurrents les plus fragiles, autres Cyanos comprises, à partir de $1 \text{ mm}^3/\text{l}$ de biomasse;
- 2- colonisation lente du milieu pour atteindre une biomasse significative, entre 1 et $100 \text{ mm}^3/\text{l}$;
- 3- élimination des concurrents restants par pression de compétition sur les ressources, au-delà de $100 \text{ mm}^3/\text{l}$

Au final, il apparaît que dans l'Erdre c'est la lutte biologique au moyen de l'allélopathie qui prépare le terrain pour que les cyanobactéries puissent proliférer.

Dans ce cas, si on considère que la diversité planctonique de Nort est optimale, elle indique que la biomasse maximale des Cyanobactéries ne doit pas dépasser 1 à $10 \text{ mm}^3/\text{l}$ dans l'Erdre pour garantir le maintien de la diversité maximale.

Comme la biomasse est directement proportionnelle au phosphore(cf. chapitre B §.1.1), ceci signifie qu'il est possible de fixer des objectifs de concentration en P total pour ramener la biomasse des Cyanobactéries au plus près de ce seuil. Ces points seront discutés dans le chapitre D.

4- Existe-t-il des populations risquant d'être remplacées par d'autres plus (ou moins) nuisibles ?

La définition de populations 'à risque' ou 'nuisibles' peut être difficile à établir et dépendra du contexte dans lequel la question est posée. Nous avons retenu comme base le potentiel toxigène, c.a.d. la capacité d'un taxon à produire une ou plusieurs toxines. Aucune liste définitive n'existe pour cela : si certaines espèces toxigènes sont bien connues (et leur toxicité vérifiée) depuis plus de 40 ans, ce n'est pas le cas pour la plupart des espèces, notamment celles qui sont les moins fréquentes ou les moins susceptibles de proliférer de manière visible.

Les figures qui suivent représentent la somme des biomasses des espèces actuellement connues comme potentiellement toxigènes (la liste est fournie en annexe au présent rapport), rassemblées par famille de toxines.

Les productrices potentielles connues de Microcystines (MCs) sont peu nombreuses dans l'Erdre : *Anabaena/Dolichospermum smithii*, le groupe des *Microcystis*, *Merismopedia tenuissima*, *Planktothrix agardhii* et *isothrix*, *Pseudanabaena mucicola*, *Woronichinia naegeliana* sont les plus communes.

Leur évolution est différente selon les stations : depuis 2005, leur biomasse est globalement en baisse à Nort s/Erdre, en hausse irrégulière à Sucé sur Erdre, et en augmentation régulière à la Jonelière où leur biomasse maximale a été multipliée par 4 en 15 ans (fig. B26).

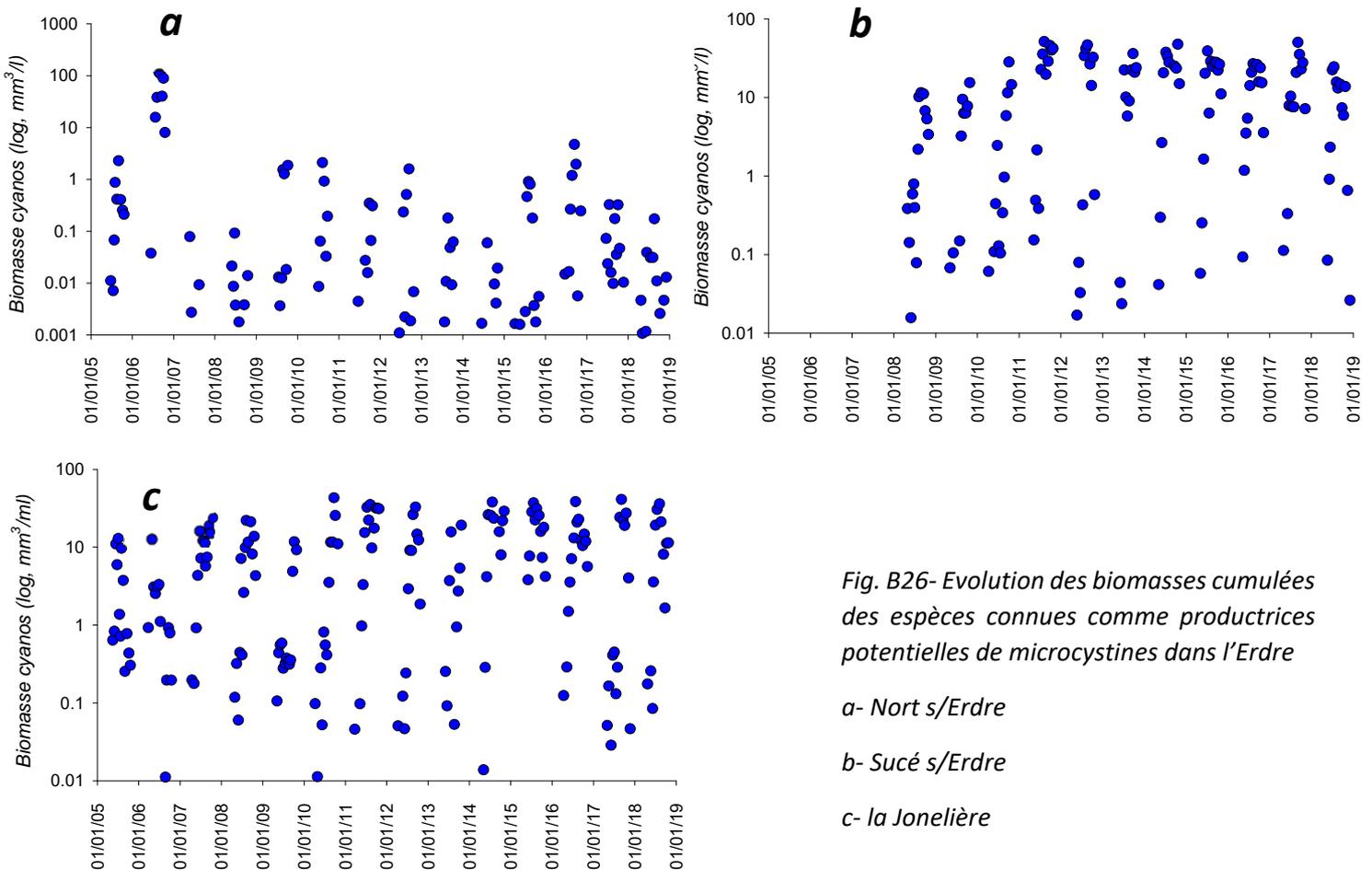


Fig. B26- Evolution des biomasses cumulées des espèces connues comme productrices potentielles de microcystines dans l'Erdre

a- Nort s/Erdre

b- Sucé s/Erdre

c- la Jonelière

Les productrices potentielles connues d'autres toxines (Anatoxine, Saxitoxines, Cylindrospermopsine) sont encore moins bien connues. Dans l'Erdre elles ne recouvrent que quelques espèces, la plupart capables de produire 2 ou 3 familles de toxines, pour une biomasse cumulée près de 100 fois plus faible que celle des productrices potentielles de MCs : *Aphanizomenon flos-aquae* et *gracile*, *Aphanizomenon/Cuspidothrix issatschenkoï*, *Cylindrospermopsis/Raphidiopsis raciborskii*...

Leur évolution est cette fois-ci plus homogènes dans les différentes stations : elles sont en diminution régulière depuis 2005 et représentaient en 2017-2018 environ 10 % de la biomasse observée en 2005-2006 (fig. B27).

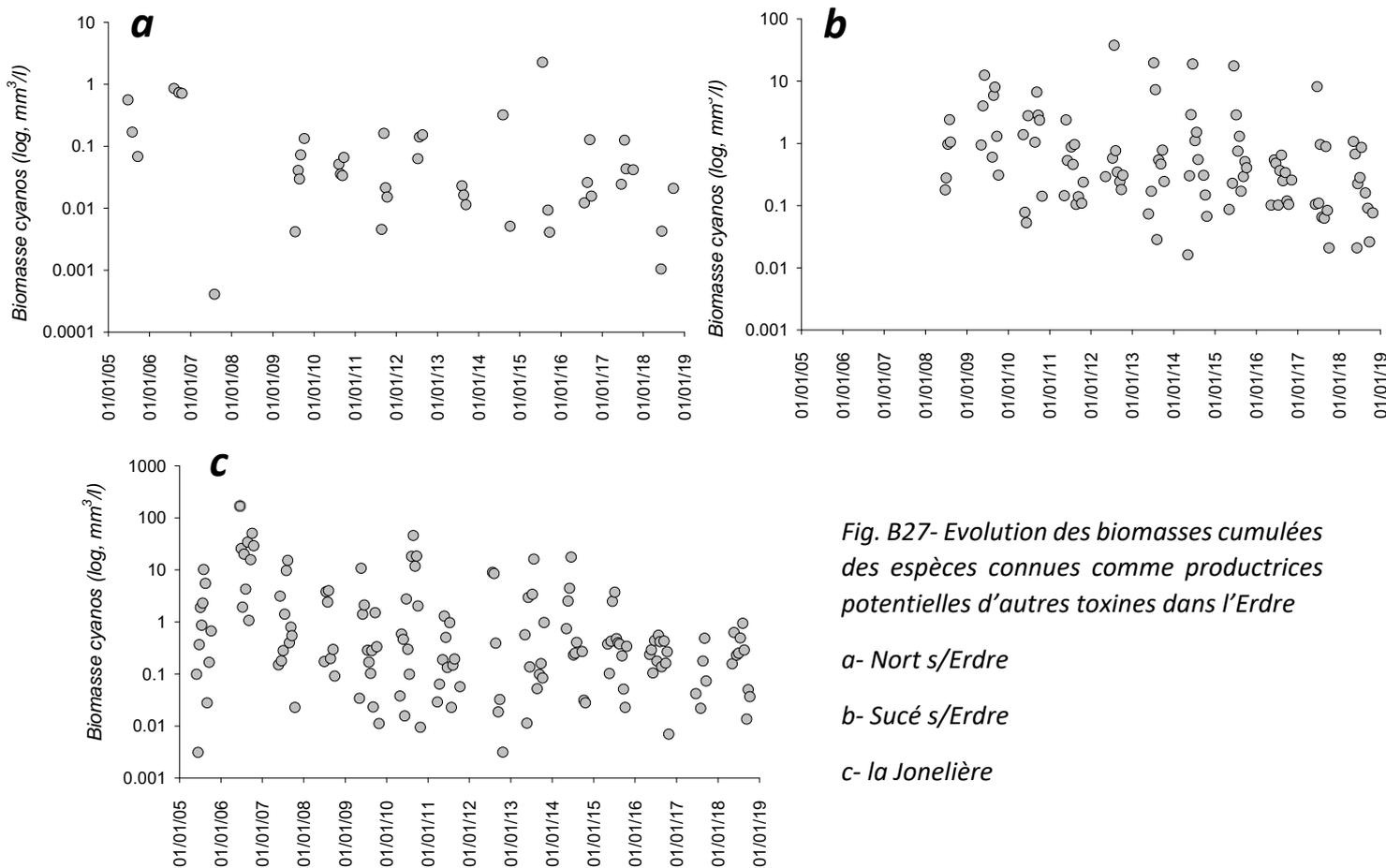


Fig. B27- Evolution des biomasses cumulées des espèces connues comme productrices potentielles d'autres toxines dans l'Erdre
a- Nort s/Erdre
b- Sucé s/Erdre
c- la Jonelière

Si l'évolution des biomasses de productrices potentielles d'anatoxine, saxitoxines et cylindrospermopsines est positive, celle des productrices potentielles de MCs dans les stations aval de l'Erdre est inquiétante.

Des travaux similaires réalisés en Bretagne et Mayenne sur la période 2004-2011 (Pitois et al. 2016) ont en effet montré qu'une augmentation de la biomasse s'accompagnait d'une augmentation de la probabilité d'observer des épisodes de production de toxines, avec des concentrations qui augmentent proportionnellement à la biomasse.

5- Peut-on observer l'apparition d'espèces jusqu'à maintenant considérées comme exotiques/invasives, et qui peuvent éventuellement tracer (aussi) les effets du changement climatique ?

L'évaluation des apparitions ou disparitions d'espèces a été réalisée par l'examen des fréquences d'observation des taxons de cyanobactéries : 1 observation = 1 occurrence, indépendamment de la biomasse présente pour chaque taxon.

Pour être considérée comme apparaissant ou disparaissant, un taxon doit montrer une fréquence d'observation qui augmente ou diminue sur les 15 années de suivi. Compte-tenu de ce qui a été observé dans le chapitre B (Biodiversité du plancton), il est cependant possible que certains taxons soient sensibles aux effets allélopathiques, ce qui peut influencer leur fréquence d'apparition. Comme *Planktothrix agardhii* est l'espèce la plus largement présente au sein de la biomasse des Cyanobactéries, nous avons considéré qu'elle était responsable de ces effets et que les apparitions/disparitions des autres espèces, pour être validées, devaient intervenir indépendamment des fluctuations des populations de *Planktothrix*.

Cet examen a alors porté sur les relevés de Nort s/Erdre et la Jonelière, pour disposer de séries complètes de mesure. Certaines espèces montrent en effet une saisonnalité nette de leurs fréquences d'observations : elles sont observées plus souvent au cours des séries d'années chaudes/sèches (2005-2006 ou 2016-18) et moins pendant les années fraîches/pluvieuses (2010 à 2014). C'est par exemple justement le cas des *Planktothrix*, mais aussi de certains *Aphanizomenon* ou des *Microcystis*. D'autres espèces au contraire étaient plus souvent présentes pendant les étés frais et pluvieux, comme les *Aphanothece*, *Aphanocapsa*, *Cyanogranis*...

Ces successions climatiques sont donc elles aussi des paramètres dont il faut tenir compte, puisque les apparitions/disparitions de taxons peuvent être liées à la fois à la météo annuelle et à la sensibilité de chaque espèce aux effets allélopathiques : au final une espèce peut être considérée comme apparaissant ou disparaissant si elle est présente indépendamment des *Planktothrix*, et si ses fréquences d'observation ont augmenté ou diminué en comparant les deux périodes chaudes et sèches qui encadrent la durée du suivi.

Sur cette base, on peut enfin observer que :

- Certains taxons ont une dépendance nettement climatique, et leur fréquence n'a pas évolué au cours des années de suivi : *Planktothrix agardhii*, *Merismopedia tenuissima*, *Aphanizomenon/Cuspidothrix issatschenkoï*, *Cyanogranis ferruginea*, *Synechococcus sp.* à Nort s/Erdre, auxquels s'ajoutent *Planktolyngbya limnetica* et *Anabaena flos-aquae* à la Jonelière. Ces taxons représentent en moyenne 45 % de la biomasse à Nort et 55 % à la Jonelière, indiquant que la majorité des taxons ont peu ou pas évolué depuis 2005.

- Les taxons en apparition, à Nort s/Erdre, sont : *Kephyrion*, *Microcystis*, *Jaaginema*, *Aphanocapsa* et *Golenkinia*. Ils représentent environ 18 % de la biomasse des cyanobactéries et seuls les *Microcystis* sont connus comme potentiellement toxigènes.

A la Jonelière s'y ajoutent les *Aphanizomenon gracile* et *klebahnii*, *Woronichinia naegeliana*, *Cylindrospermopsis/Raphidiopsis raciborskii*, *Anabaena/Sphaerospermis aphanizomenoides*, *Geitlerinema amphibium*, *Romeria sp.* et *Chroococcus microscopicus*. Ces espèces représentent environ 17 % de la biomasse des cyanobactéries, et quasiment toutes sont potentiellement toxigènes.

Enfin, bien que *P. agardhii* soit omniprésente dans cette station, ses fréquences d'observations sont également en augmentation, indiquant une durée de présence plus longue chaque année dans les relevés.

- Les taxons en régression, à Nort s/Erdre, sont *Aphanothece sp.*, *W. naegeliana*, *Chroococcus sp.*, *Coelomoron pusillum* et *Limnothrix sp.* Seule *W. naegeliana* est potentiellement toxigène (productrice de MCs), la biomasse de ces taxons représente 9 % de la biomasse des Cyanobactéries.

A la Jonelière, on peut recenser *Aphanocapsa sp.*, *Merismopedia tenuissima*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Coelomoron pusillum*, *Cyanogranis ferruginea*, *Anabaena mendotae* et *Oscillatoria sp.*, représentant environ 30 % de la biomasse des Cyanobactéries et dont 50 % sont potentiellement toxigènes.

Au final, le bilan apparaît plutôt mitigé et de nombreuses espèces ne peuvent pas être précisément caractérisées. C'est notamment le cas de nombreuses Nostocales, pourtant souvent toxigènes, mais pour lesquelles aucune classification homogène n'existait avant 2009 ; or c'est le groupe des Nostocales qui comprend le plus d'espèces dites 'exotiques' donc d'apparition récente en Europe, telles que *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Anabaena mendotae*, *Sphaerospermis aphanizomenoides*...

On peut cependant noter que plusieurs taxons en cours d'apparition, notamment à la Jonelière, sont potentiellement toxigènes et que leur progression intervient en parallèle à la régression de taxons non toxigènes, ce qui est un facteur aggravant. Pour autant ces taxons en progression ne marquent pas nécessairement un effet du changement climatique ; ils peuvent également être favorisés par leur faible sensibilité aux effets allélopathiques supposés liés aux *Planktothrix*, qui sont eux-mêmes en progression à la fois en termes de fréquence et de biomasse, et peuvent imposer une pression de sélection d'origine biochimique sur les espèces qui peuvent s'épanouir dans l'Erdre.

C- Toxines

1- Quelles toxines peut-on potentiellement rencontrer dans l'Erdre ?

Avant de s'intéresser en détail à la distribution des toxines dans l'Erdre, il est utile d'examiner leur relation générale avec les éléments d'alerte sanitaire: les seuils de vigilance sont en effet évalués au travers des densités cellulaires des cyanobactéries. Une étude récente sur l'ensemble des baignades de Bretagne et Mayenne (Pitois et al. 2016) a montré que la fréquence de détection des microcystines était inversement proportionnelle aux densités cellulaires, et que la présence des toxines était maximale dans les gammes de densité pour lesquelles on les recherchait rarement (< 100 000 cell/ml, niveau 3 de l'OMS).

Dans l'Erdre (fig. C1), les taux de détection tendent à augmenter entre 10 000 et 100 000 cell/ml, où ils sont maxima (présence dans 92 % des échantillons), avant de diminuer ensuite pour atteindre un minimum (présence dans 33 % des échantillons) entre 1 et 2 millions de cellules/ml. C'est donc une distribution différente de ce qui a été observé en Bretagne et Mayenne: les toxines y sont détectées au maximum dans 33 % des échantillons analysés, pour une densité cellulaire de 50 000 cell/ml.

Les MCs sont donc particulièrement présentes dans les stations de l'Erdre (de 2 à 4 fois plus fréquentes que dans les 5 autres départements étudiés), et à des fréquences significatives dès les faibles densités: 39 % de présence entre 10 et 20 000 cell/ml, et 67 % de 20 à 50 000 cell/ml.

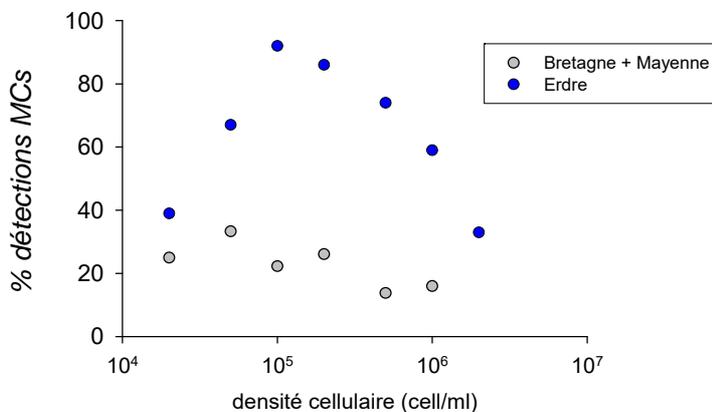


Fig. C1- Fréquence de détection des MCs dans l'Erdre en fonction des densités cellulaires de cyanobactéries

Exprimés en fonction de la biomasse (fig. C2), les taux de détection sont moins contrastés: ils augmentent rapidement jusqu'à un maximum de 83 % de détections pour une biomasse de 1 à 2 mm³/l, soit 1 à 2 mg/l de cyanobactéries (exprimées en poids frais), puis diminuent lentement vers un minimum de 50 % pour les biomasses de 50 à 100 mm³/l, à comparer au maximum de 33 % de détections relevé pour les mêmes biomasses en Bretagne et Mayenne.

Là encore les taux de détection dans l'Erdre sont significatifs dès les faibles biomasses, avec une présence de MCs dans 62 % des échantillons dès 0.5 mm³/l ou 0.5 mg/l de poids frais, contre 16 % dans les départements de Bretagne et Mayenne.

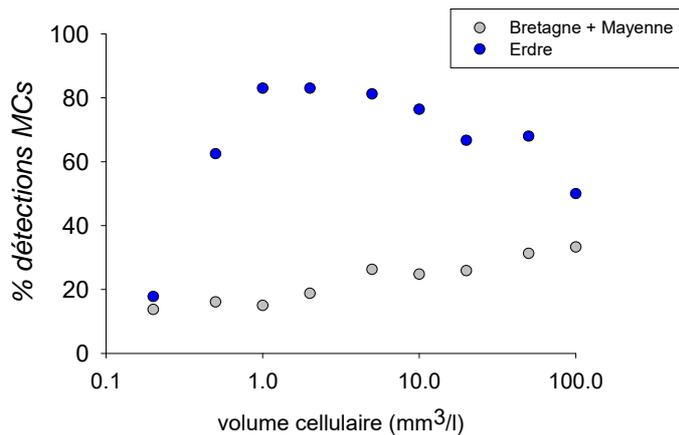


Fig. C2- Fréquence de détection des MCs dans l'Erdre en fonction des biomasses de cyanobactéries

Malgré des fréquences de détection élevées, la relation entre biomasse et concentrations en MCs reste similaire à ce qui est déjà observé dans l'Ouest (fig. C3). Cette relation montre notamment que tous les quantiles de microcystines (représentés de 10 à 90 % sur la fig. C3) sont proportionnels à la biomasse, et que les concentrations de toxines augmentent d'un facteur 10 quand la biomasse augmente d'autant.

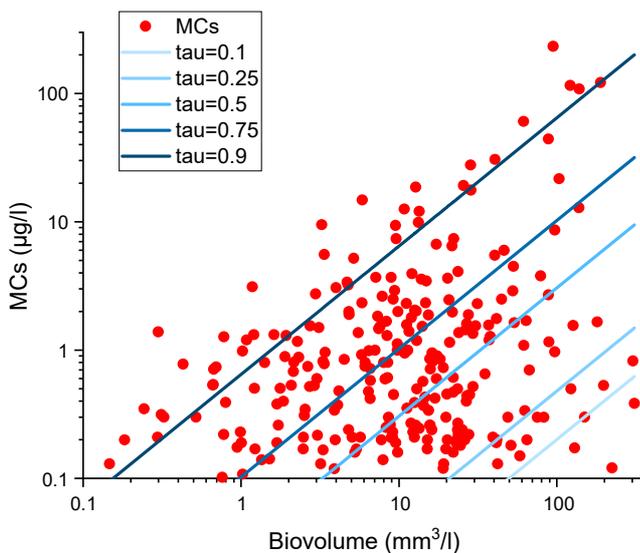


Fig. C3- Distribution des MCs en fonction de la biomasse des cyanobactéries dans l'ensemble des stations Bretagne, Mayenne et Erdre.

Représentation des concentration en MCs du 10^{ème} (Tau=0.1) au 90^{ème} quantile (Tau=0.9)

En inversant la figure C3, donc en représentant les biomasses en fonction des MCs (fig. 4 page suivante), il est possible de confirmer que le seuil de 0.5 mm³/l correspond, dans l'Erdre comme dans les autres départements, à la biomasse minimale pour atteindre 1 µg/l de MCs totales. Cette biomasse représente environ 12 000 cell/ml de *Planktothrix*, 8 500 cell/ml d'*Aphanizomenon*, ou encore 3 500 à 5 000 cell/ml de *Microcystis* ou d'*Anabaena*.

La biomasse minimale pour atteindre le seuil actuel d'interdiction de baignade (soit 13 µg/l de MCs totales) correspond quant à elle à près de 3 mm³/l, soit environ 75 000 cell/ml de *Planktothrix*, 50 000 cell/ml d'*Aphanizomenon*, ou encore 25 à 30 000 cell/ml de *Microcystis* ou d'*Anabaena/Dolichospermum*.

Il apparaît alors qu'en présence de cyanobactéries connues comme toxigènes (qui ont des volumes cellulaires importants), les MCs devraient être recherchées bien en-deçà du seuil habituel de 100 000 cell/ml et de préférence sur critère de biomasse totale des cyanobactéries (Pitois et al. 2016) afin d'anticiper le plus en amont possible les épisodes d'exposition aux toxines.

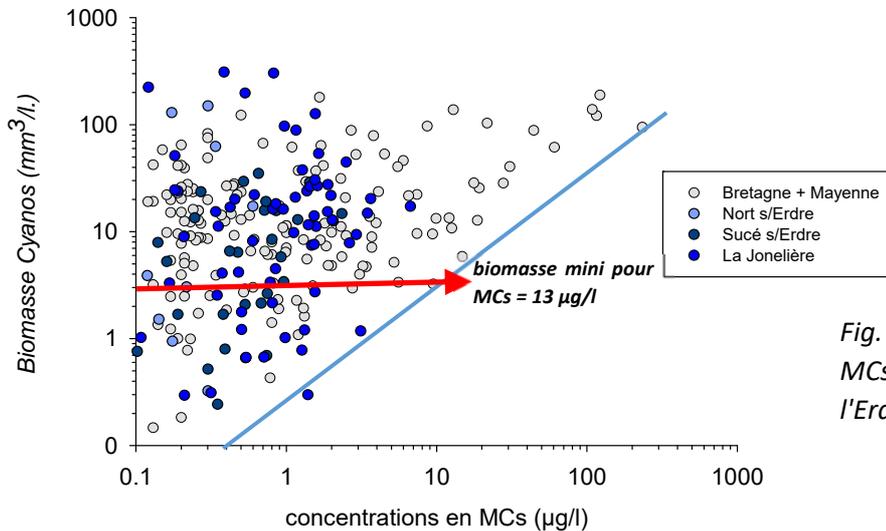


Fig. C4- Relation entre concentration en MCs et biomasse des cyanobactéries dans l'Erdre et en Bretagne et Mayenne

Comparées aux biomasses totales de cyanobactéries dans l'Erdre, les concentrations en MCs sont dans l'ensemble stables et inférieures à 1.5 µg/l jusqu'à 10 mm³/l (fig. C5), seuil à partir duquel elles augmentent rapidement vers leur maximum, atteint pour 20 mm³/l.

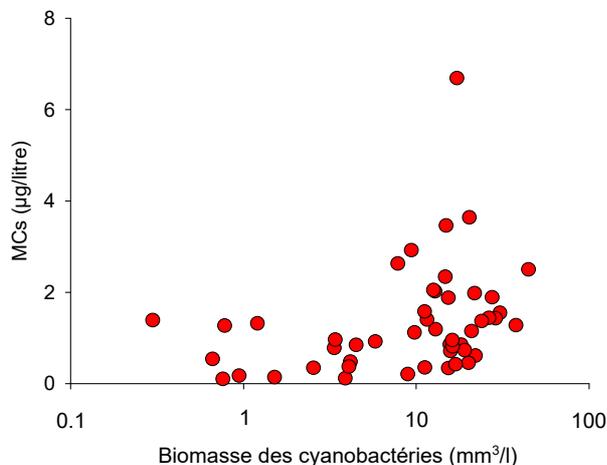


Fig. C5- Concentration en MCs totales en fonction de la biomasse des cyanobactéries dans l'Erdre

Cette distribution peut être expliquée par la composition de la flore dans l'Erdre, dominée chaque année par une espèce quasi-exclusive, *Planktothrix agardhii*. Si on représente les concentrations de MCs en fonction de la biomasse des *Planktothrix* (fig. C6) , on retrouve 2 domaines distincts:

- Pour les faibles biomasses de *Planktothrix* (< 0.01 mm³/l), les MCs sont en générale inférieures à 1 µg/l, à l'exception d'un épisode ponctuel où elles ont atteint 3 µg/l (fig. C6a). Dans ces situations, les *Planktothrix* représentent moins de 10 % de la biomasse totale des cyanobactéries productrices de MCs, et ce sont les autres espèces toxigènes qui peuvent être associées à la production de toxines.

- Pour les fortes biomasses de *Planktothrix* ($0.1 \text{ mm}^3/\text{l}$), dès lors qu'ils représentent plus de 40 % de la biomasse de cyanobactéries (fig. C6b), les concentrations en MCs tendent à augmenter proportionnellement au pourcentage de *Planktothrix*, et atteignent leur maximum quand celui-ci dépasse 90 % de la biomasse.

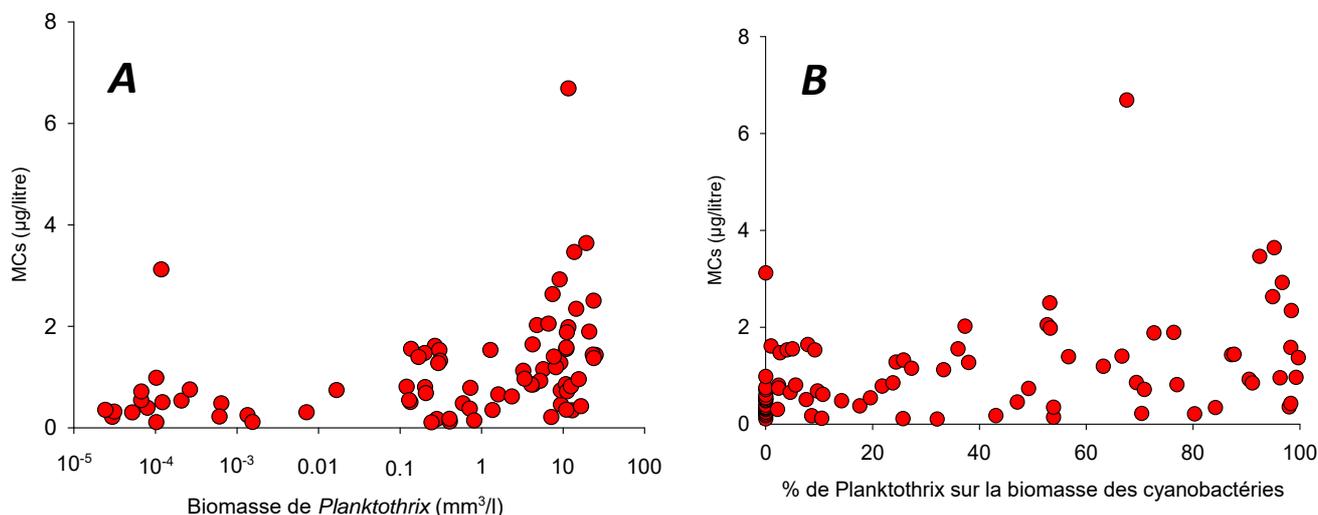


Fig. C6- Concentration en MCs totales en fonction de la biomasse de *Planktothrix* (A) et du % de *Planktothrix* dans la biomasse de cyanobactéries (B)

Bilan :

Dans l'Erdre, les MCs sont observées avec des fréquences plus importantes qu'en Bretagne et Mayenne, mais avec des concentrations moins élevées que dans les autres départements suivis. Les épisodes de présence de toxines peuvent être reliés à quasiment tous les taxons potentiellement toxigènes, mais les concentrations maximales sont clairement liées aux épisodes de dominance de *Planktothrix agardhii* dans la flore.

Cette situation est explicable par la composition particulière de la flore de l'Erdre, peu variable d'une année sur l'autre et moins diversifiée que dans l'ensemble des autres sites étudiés. En Bretagne et Mayenne, les *Planktothrix* sont également le taxon le plus fréquent, mais leur dominance est moins établie puisqu'ils représentent en moyenne 16 % de la biomasse, juste devant les *Microcystis* et *Woronichinia* représentant chacun 10 à 12 % de la biomasse. Dans l'Erdre, *Microcystis* et *Woronichinia* représentent chacun 5 % de la biomasse contre 48 à 52 % pour les seuls *Planktothrix*.

S'agissant de sites géographiquement proches et partageant un contexte trophique et climatique similaire, ces populations spécifiques à l'Erdre peuvent être expliquées par un ensemble de paramètres morphologiques et hydrologiques originaux qui seront illustrées dans le prochain chapitre.

2- Plus spécifiquement, quelles variantes de toxines (et notamment de microcystines) peuvent être attendues dans l'Erdre ?

Pour estimer les toxines potentiellement présentes dans l'Erdre, nous nous sommes basés sur une étude réalisée de 2007 à 2010 sur 10 retenues AEP dont 8 sont situées dans le grand Ouest (Pitois et al. 2018). Ces 8 retenues sont implantées sur un territoire incluant l'Ille et Vilaine, le Morbihan, la Loire Atlantique et la Vendée, donc dans un contexte trophique, géochimique et climatique très proche de celui du bassin de l'Erdre (Fig. C7).

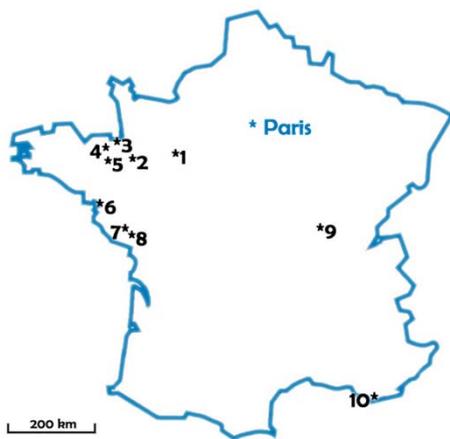


Fig. C7- Localisation des retenues suivies pendant l'étude multi-toxines de 2007-2010

Cette étude portait sur les occurrences des principales familles de toxines (MCs, ATX, STX et CYN) en fonction des populations de cyanobactéries présentes, et par comparaison avec les populations de l'Erdre il sera possible d'évaluer les toxines les plus probables et fréquentes, puis de discuter la pertinence des analyses réalisées dans le cadre du suivi sanitaire de l'Erdre.

Dans un premier temps, l'examen des fréquences des toxines, toutes situations confondues, montrait que des MCs étaient détectables dans 64 % des échantillons, des ATX dans 35 % des échantillons, et des STX et CYN dans 14-15 % des échantillons. Les concentrations maximales atteignaient respectivement 12.6 µg/l pour les MCs, 0.46 µg/l pour les ATX et moins de 0.1 µg/l pour les STX et CYN: les MCs pouvaient donc être proches des limites d'interdiction de baignade, mais les ATX sont toujours restées inférieures aux limites correspondantes (40 µg/l).

Ces chiffres confirment la place habituelle attribuée aux toxines dans la littérature, avec les MCs comme famille la plus fréquente et présentant les concentrations les plus élevées, suivie des ATX, alors que STX et CYN restaient occasionnelles et avec des concentrations mineures.

On peut également redécouper ces résultats en fonction des groupes de cyanobactéries dominantes: *Planktothrix*, *Microcystis*, et Nostocales tous taxons confondus puisqu'elles sont trop peu fréquentes pour être distinguées individuellement. En retenant un seuil de coupure de 60 % de la biomasse de cyanobactéries, on obtient des profils de fréquence des occurrences de toxines différents en fonction des taxons dominants (fig. 8 page suivante).

- Dans les populations dominées par des *Planktothrix* (fig. C8a), des MCs étaient détectées dans 65 % des échantillons (jusqu'à 12.6 µg/l), et des ATX dans 42 % des cas (jusqu'à 0.46 µg/l). Les STX et CYN étaient plus rares avec 10 et 22 % de détection, et des concentrations inférieures à 0.1 µg/l.

- Dans les populations dominées par les Nostocales (fig. C8b), les fréquences des MCs et ATX étaient similaires (42 et 37 % respectivement), avec des STX et CYN associées dans 10 et 5 % des cas. Les concentrations maximales en MCs atteignaient 1.6 µg/l, alors que les autres familles restaient inférieures à 0.1 µg/l.
- Dans les populations dominées par les *Microcystis* (fig. C8c), enfin, les MCs étaient présentes dans 76 % des échantillons, les ATX dans 28 %, les CYN dans 19 %, et les STX n'étaient pas détectables. Les concentrations maximales atteignaient 9 µg/l pour les MCs, les autres familles restant inférieures à 0.1 µg/l.

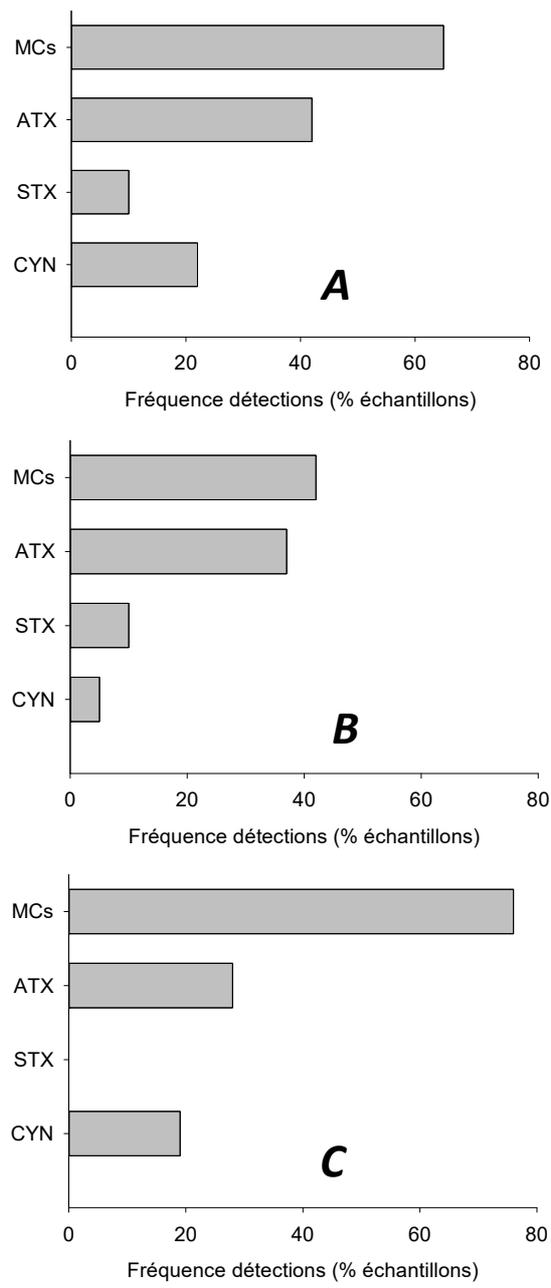


Fig. C8- Fréquences de détection des familles de toxines en fonction des Cyanobactéries dominantes dans les sites de l'étude multitoxines de 2007-2010:
A- Planktothrix
B- toutes Nostocales confondues
C- Microcystis

Les résultats du suivi de l'Erdre, pour les années 2007-2010, sont globalement comparables avec ceux de l'étude citée, puisque des MCs étaient détectables dans plus de 90 % des échantillons testés à Sucé s/Erdre et la Jonelière, avec des concentrations maximales de 4.9 à 6.7 µg/l. On peut donc s'attendre à ce que la distribution générique des quatre familles de toxines suive le profil de fréquence déterminé pour les populations de *Planktothrix* de la figure 8A.

Dans un second temps, sachant que les MCs sont les seules toxines analysées présentes dans les chroniques EDENN, il peut être intéressant de détailler plus précisément les variantes de la molécule qui sont attendues dans des milieux comme l'Erdre. L'étude multitoxines déjà citée a en effet porté sur un total de 8 formes différentes: les formes les plus courantes comme -LR, -RR et -YR, des formes plus rares comme -LA, -LF et -LW, et des variantes déméthylées fréquentes comme [Asp3]LR et [Asp3]RR.

Rappelons que dans le cadre du suivi sanitaire de l'Erdre, seules les formes -LR, -RR, -YR, et depuis peu -LA sont analysées en routine.

On peut tout d'abord noter que, pour les formes de MCs observées dans l'étude 2007-2010, les -LR, -YR et -RR étaient présentes dans 65 à 85 % des échantillons contenant des microcystines, confirmant leur réputation de toxines fréquentes (fig. C9a). Les formes déméthylées de -LR et -RR, pourtant, étaient observables dans 94 et 67 % des échantillons respectivement, ce qui est loin d'une fréquence marginale.

En termes de concentrations (fig. C9b), si les MC-LR représentaient le maximum des formes classiques avec une moyenne de 0.4 µg/l, les [Asp3]RR, tout aussi fréquentes, atteignaient une moyenne de 0.9 µg/l, soit plus du double des MC-LR.

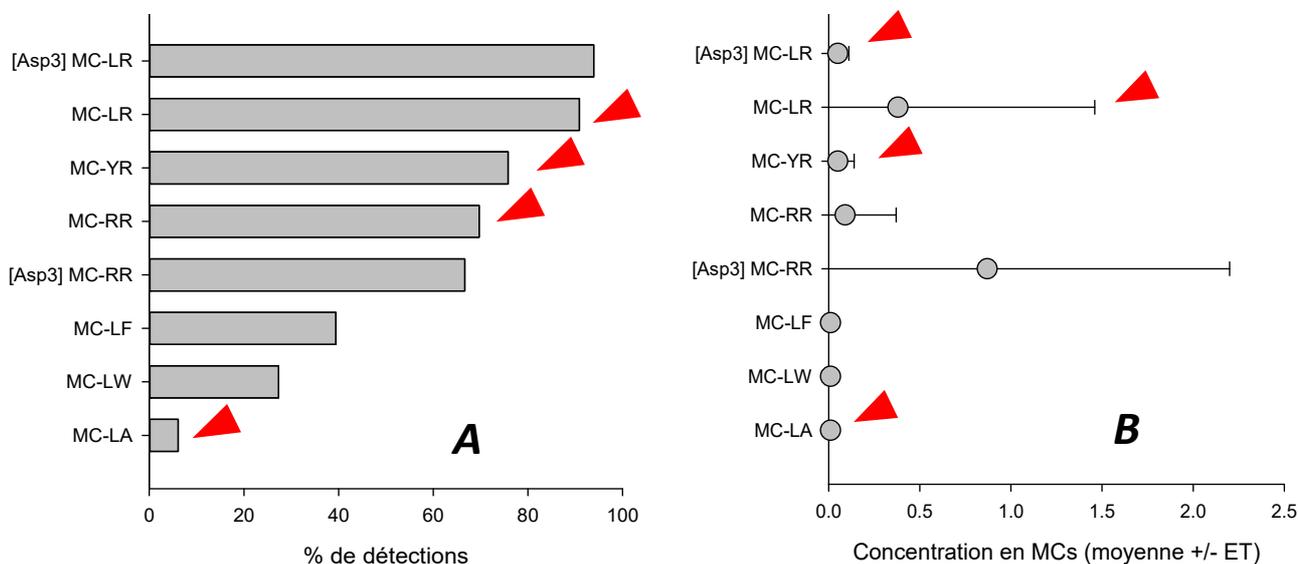


Fig. C9- Distribution des formes de microcystines dans les sites suivis par l'étude de 2007-2010, tous taxons confondus. Flèches rouges: formes incluses dans le suivi de l'Erdre.

A- Fréquences de détection

B- Concentration moyenne +/- écart-type

Là encore, il est instructif de distinguer les profils de détection en fonction des populations de cyanobactéries dominantes:

- Dans les populations dominées par des *Planktothrix* (fig. C10), les variantes "classiques" LR, RR et YR étaient à nouveau parmi les formes les plus fréquentes, avec 33 à 51 % d'occurrences. Elles n'étaient cependant pas les plus présentes, cette place était occupée par les deux formes déméthylées de LR et RR détectées dans 51 à 58 % des échantillons.

En termes de concentrations, c'était une forme déméthylée, [Asp3]RR, qui représentait le maximum avec 1.5 $\mu\text{g/l}$ en moyenne, soit 10 fois plus que la concentration moyenne des MC-LR.

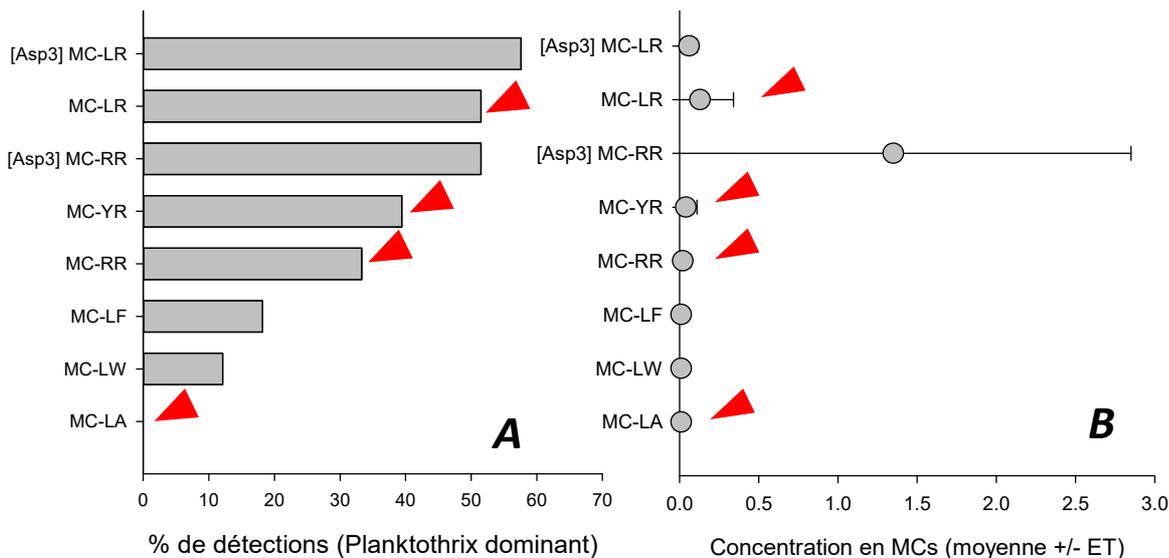


Fig. C10- Distribution des formes de microcystines dans les populations dominées par les *Planktothrix*, étude 2007-2010 déjà citée. Flèches rouges: formes incluses dans le suivi de l'Erdre.

A- Fréquences de détection

B- Concentration moyenne +/- écart-type

- Dans les populations dominées par les Nostocales (fig. C11), MC-RR, -LR et -YR apparaissaient dans 60 à 80 % des échantillons contenant des microcystines, et les MC-LR y étaient quantitativement majoritaires avec des concentrations moyennes de 1 à 6 $\mu\text{g/l}$.

Les formes déméthylées étaient en revanche rencontrées dans moins de 15 % des cas, et avec des concentrations moyennes inférieures à 0.1 $\mu\text{g/l}$.

- Dans les populations dominées par les Microcystis (fig. C12), les 3 formes classiques étaient également largement dominantes, avec des détections dans plus de 90 % des échantillons analysés. Une forme déméthylée, [Asp3]LR, était cependant observable dans 67 % des cas.

En termes de concentrations, les MCs étaient dominées par la MC-LR (1 à 3 $\mu\text{g/l}$) associée à MC-RR (0.25 à 1 $\mu\text{g/l}$) et MC-YR (0.1 à 0.3 $\mu\text{g/l}$); tous les autres variants, formes déméthylées comprises, étaient détectables mais non quantifiables.

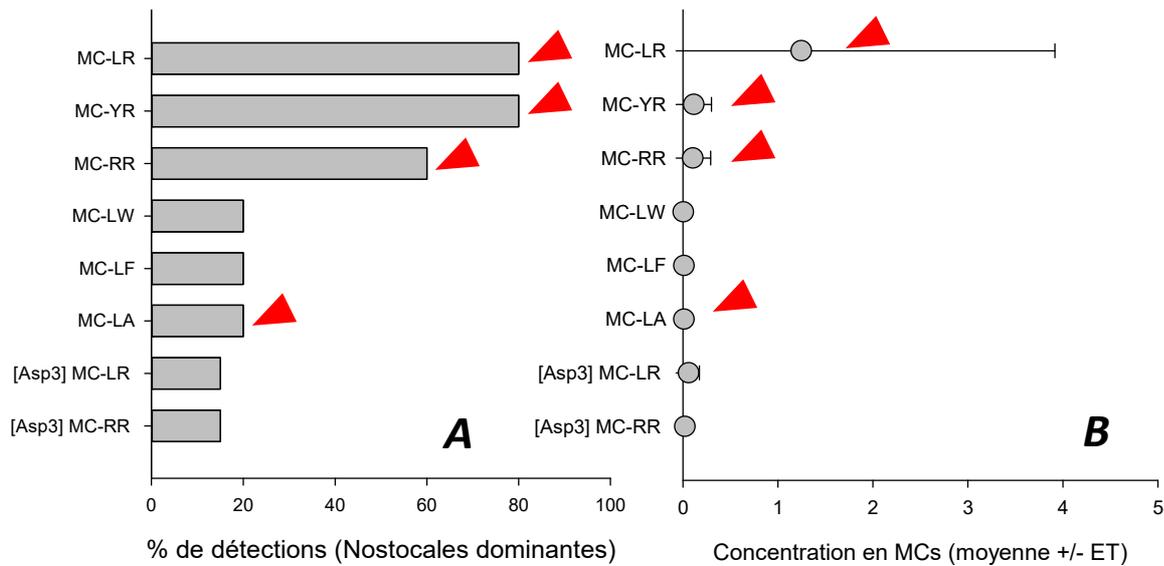


Fig. C11- Distribution des formes de microcystines dans les populations dominées par les Nostocales, étude 2007-2010 déjà citée. Flèches rouges: formes incluses dans le suivi de l'Erdre.

A- Fréquences de détection

B- Concentration moyenne +/- écart-type

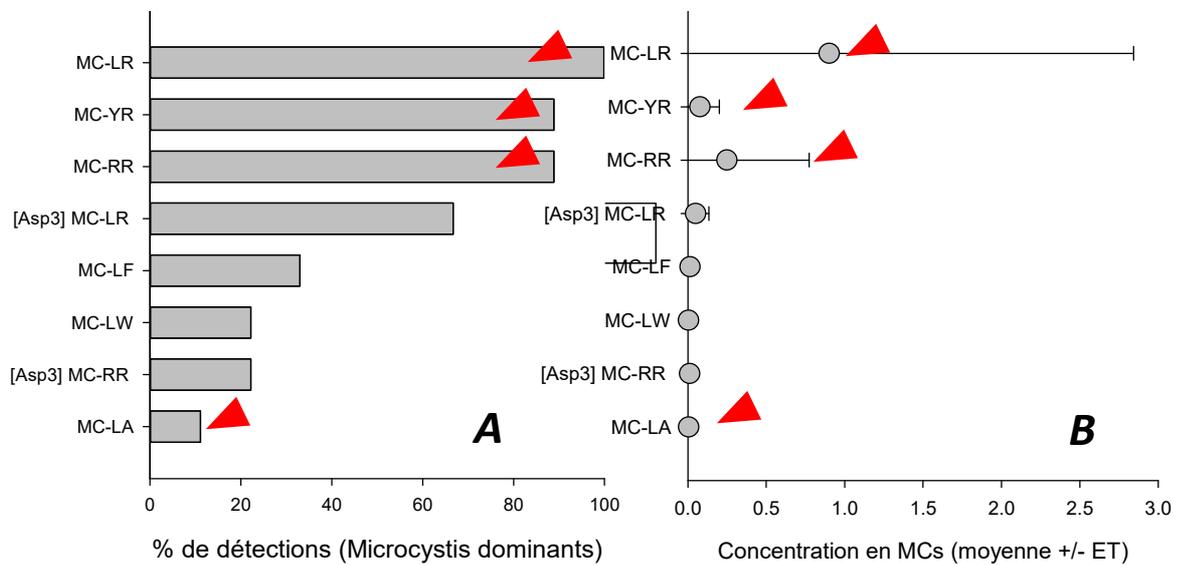


Fig. C12- Distribution des formes de microcystines dans les populations dominées par les Microcystis, étude 2007-2010 déjà citée. Flèches rouges: formes incluses dans le suivi de l'Erdre.

A- Fréquences de détection

B- Concentration moyenne +/- écart-type

Un essai de validation a été réalisé pendant l'été 2019, à partir de 6 échantillons d'eau de l'Erdre prélevés en période de prolifération de cyanobactéries, d'août à novembre. Ces échantillons ont été analysés par Laboceca Brest à la recherche des microcystines suivantes: MC-LR, RR, YR, LW, LA, LF, LY, ainsi que les formes déméthylées [Asp3]LR et [Asp3]RR.

Chacune de ces molécules était recherchée sous forme dissoute (soluble) et particulaire (intracellulaire), soit un total de 18 formes différentes.

Dans le même temps, les ATX, STX et CYN ainsi que les Nodularines (molécule proche des microcystines) étaient recherchées simultanément aux MCs, également sous forme dissoute et intracellulaire, soit 4 familles supplémentaires sous 8 formes différentes.

Les résultats ont montré la présence de microcystines dans 4 échantillons sur 6, et permis d'identifier 4 formes différentes systématiquement rencontrées sous forme particulaire, c.a.d. incluse dans la biomasse des cyanobactéries:

- MC-LR dans 3 échantillons, avec 1.5 à 8.7 µg/l;
- MC-RR dans 2 échantillons, avec 0.5 à 2.8 µg/l;
- [Asp3]MC-LR et MC-LW dans un échantillon chacune, avec 0.15 à 0.25 µg/l.
- Aucune autre famille de toxines n'a pu être mise en évidence sur ces échantillons, mais le faible nombre d'analyses réalisées ne permet pas d'écarter l'hypothèse de leur présence récurrente dans l'Erdre.

Finalement, concernant les toxines potentiellement présentes dans l'Erdre:

- L'étude déjà citée de 2007-2010 montre que chaque type de population, dès lors qu'il est dominé par une groupe de cyanobactéries en particulier, peut héberger 3 à 4 familles de toxines avec des distributions différentes. Dans tous les cas les différentes variantes de Microcystines sont les plus fréquentes, mais elles sont régulièrement associées à des neurotoxines (notamment les Anatoxines) et plus ponctuellement avec des cytotoxines comme la Cylindrospermopsine.

- C'est particulièrement le cas dans les configurations similaires à celle de l'Erdre, où la flore est dominée chaque année par les *Planktothrix*: dans cette situation les Microcystines et Anatoxines sont attendues en théorie dans plus de 40 % des échantillons, alors que les STX et CYN paraissent être potentiellement observables dans 10 à 20 % des échantillons. Les ATX devraient donc a minima être incluses dans le suivi de l'Erdre, mais idéalement toutes les familles de toxines devraient être recherchées systématiquement.

- Pour juger de l'opportunité du suivi de plusieurs familles de toxines, on ne peut se baser sur les seules toxines produites par le taxon dominant. Les *Planktothrix* sont en effet connus comme producteurs de MCs mais aucune source scientifique n'a pu pour l'instant montrer leur capacité à produire des neurotoxines. Pour autant, une flore "dominée par" les *Planktothrix* ne signifie pas qu'ils y sont exclusifs, et la présence simultanée de plusieurs taxons différents peut induire une réponse sous forme de la production de toxines.

Des travaux récents (Briand et al. 2016, 2018) ont par exemple montré que des co-cultures mettant en présence des *Planktothrix* et des *Microcystis* partageant un milieu de culture commun se traduisaient par la production spécifique de plusieurs centaines de molécules, y compris des MCs, impliquées dans des interactions entre espèces (échanges d'informations, allélopathie...). Il est possible que des interactions favorisant la production de toxines puissent intervenir également entre *Planktothrix* et autres cyanobactéries productrices d'ATX, voire de STX et CYN, même si en termes de biomasse ces autres espèces sont minoritaires dans l'échantillon.

- En résumé, le suivi de l'Erdre concerne actuellement principalement les microcystines sous forme classique (LR, RR, YR, LA) et ne recherche ni les MCs déméthylées (dont la présence a été confirmée en 2019), ni aucune autre famille de neuro- ou cytotoxines (ATX responsables des mortalités animales dans le bassin de la Loire en 2016 et 2018, STX ou CYN).

Selon les données disponibles, ce type de suivi est pertinent pour les sites où la biomasse planctonique est en permanence dominée par des *Microcystis* (cf. fig. 12 A et B). Or les cas de dominance par les seuls *Microcystis* dans l'Erdre interviennent, toutes stations confondues, seulement 1 année sur 3 ou 1 année sur 2, pour des durées totales de 1 à 3 semaines par an.

Par comparaison, les cas de dominance par des Nostocales où MCs et ATX sont détectées avec des fréquences similaires (fig 11 A et B) interviennent dans chaque station plus de 8 années sur 10 pour des durées maximales de 4 à 13 semaines par an.

Les épisodes de dominance par les *Planktothrix*, enfin, où les variantes déméthylées de MCs sont les plus fréquentes (fig. 10 A et B), interviennent chaque année avec des durées maximales de 6 semaines à Nort s/Erdre, mais de 18 à 21 semaines à Sucé sur Erdre ou la Jonelière.

Le suivi des toxines apparaît donc très insuffisant en l'état et devrait intégrer au minimum les anatoxines et les formes fréquentes de microcystines déméthylées comme les [Asp3]MC-LR et [Asp3]MC-RR pour rendre correctement compte des risques associés à la présence des populations de cyanobactéries caractéristiques de l'Erdre.

3- Quelles sont les causes possibles de l'écart entre les tests « ELISA » et les analyses par chromatographie pour la recherche des microcystines ?

Les microcystines sont l'objet dans l'Erdre de 2 types de suivi: un suivi d'alerte utilisant des techniques enzymatiques (méthode ELISA) et un suivi réglementaire utilisant des méthodes de chimie analytique classique.

Avant de comparer les résultats de ces suivis, il faut rappeler succinctement le principe de ces méthodes d'analyse:

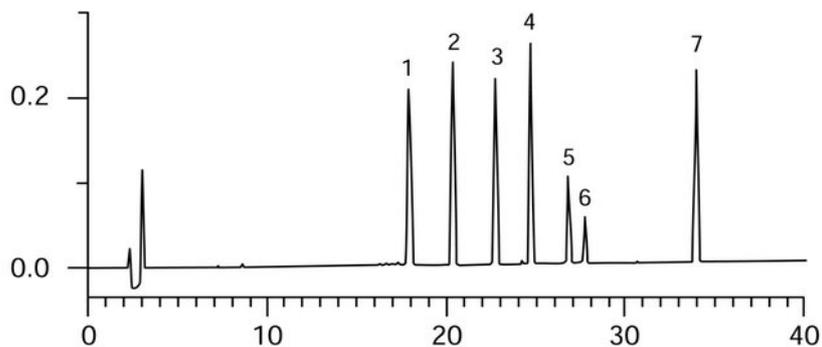


Fig. C13- Courbe d'élution pour des standards de toxines sur une chaîne HPLC: chaque toxine est éluée à un temps spécifique de 18 à 34 minutes après injection de l'échantillon; la hauteur du pic (absorption en UV à 230 nm) permet de quantifier chaque molécule.

1-MC-RR; 2-NOD; 3-MC-YR; 4-MC-LR; 5-MC-FR; 6- MC-WR; 7- MC-LA (in Park et al., 2001)

- En chimie analytique, les molécules sont identifiées sur la base de leurs propriétés physico-chimiques. L'échantillon subit une préparation spécifique pouvant comprendre des étapes d'extraction et de purification pour réduire les interférences, puis de transfert dans un milieu permettant la tenue de l'analyse proprement dite.

L'identification de la molécule tiendra ensuite compte de certaines propriétés spécifiques en fonction des méthodes, comme le temps d'élution et le taux d'absorption spectrophotométrique en HPLC (les MCs absorbent dans l'ultraviolet, fig. C13), ou l'identification de fragments de molécules par leur rapport masse/charge électrique en spectrométrie de masse (MS, fig. C14 a et b).

Ces méthodes sont très discriminantes, chaque molécule possède une signature individuelle qui dépend fortement des constituants matériels de la chaîne analytique. Une molécule ne peut alors être identifiée que par comparaison avec un standard par étalonnage interne (les résultats d'une chaîne d'analyse ne sont pas "échangeables" avec une autre), ce qui implique qu'on ne peut quantifier en analyse de routine que les molécules qui sont à la fois connues et recherchées.

Dans la pratique, les molécules recherchées vont être choisies en fonction de leur fréquence et de leur représentativité (réelles ou supposées en fonction des connaissances disponibles), et varient selon les laboratoires entre une (MC-LR seule), trois (MC-LR, -RR et -YR) ou plus (jusqu'à 8-10 MCs) si on prend en compte les variantes déméthylées.

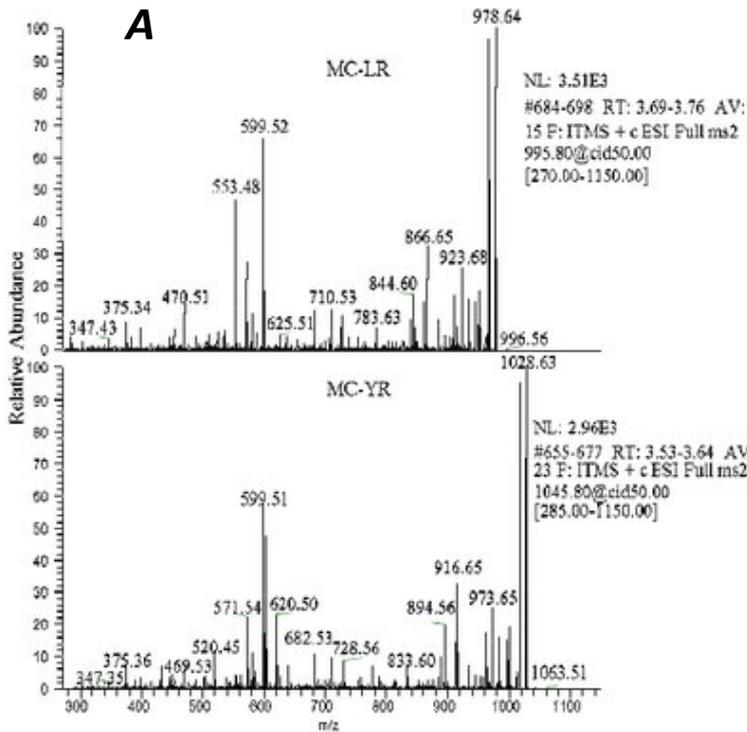
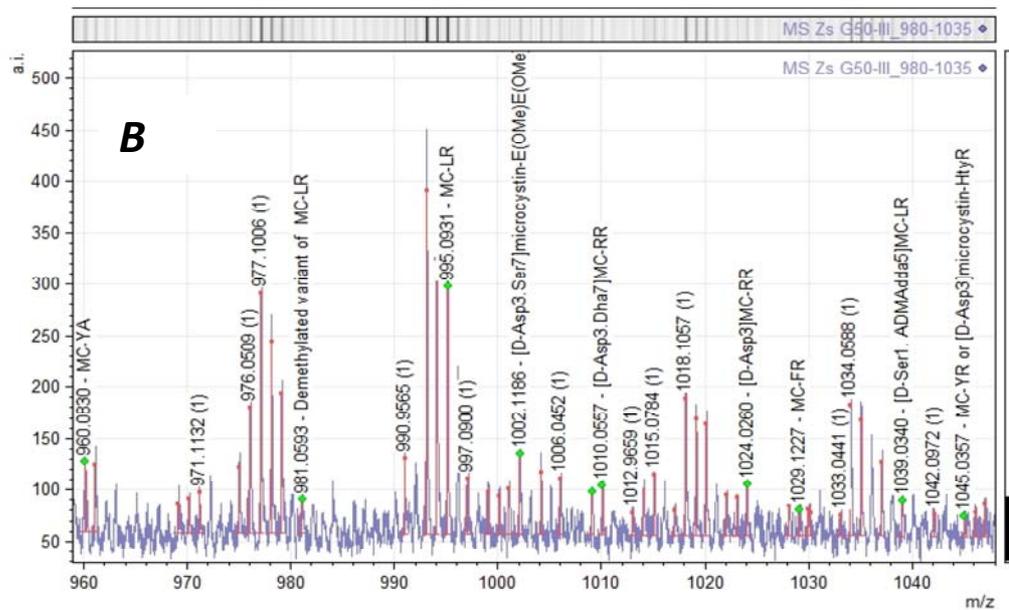


Fig. C14A: spectres de masses de 2 microcystines (LR et YR) en LC/MS (in Pedro et al., 2012)

Fig C14B: spectres de masses de 6 microcystines analysées en MALDI TOF (in Dominguez-Pérez et al., 2017)



- Le principe des techniques enzymatiques est différent: elles sont basées sur une réaction impliquant un anticorps spécifique à une portion de la structure spatiale de la molécule recherchée (antigène). Le matériel utilisé pour le suivi de l'Erdre, comme la plupart des tests de terrain, permet une analyse semi-quantitative rapide au moyen d'une réaction colorée dont l'intensité est inversement proportionnelle à la concentration en toxines dans l'échantillon.

Les tests utilisés sur l'Erdre utilisent des anticorps monoclonaux spécifiques d'un groupement (groupe ADDA) commun à toutes les microcystines et nodularines (fig. C15). Ceci permet de détecter/quantifier simultanément et indifféremment toutes les molécules possédant ce groupement et réagissant avec l'anticorps, pour un résultat assimilé à la somme des microcystines totales.

A la différence des méthodes analytiques classiques, on ne peut pas identifier précisément les molécules impliquées dans la réaction: il faut dans ce cas passer par une analyse chimique classique pour définir la liste des variantes de toxines présentes dans l'échantillon.

En revanche le résultat ne dépend plus d'un étalonnage limitant la capacité de détection aux molécules déjà connues et peut fournir une information préventive dans des délais réduits et à moindre coût.

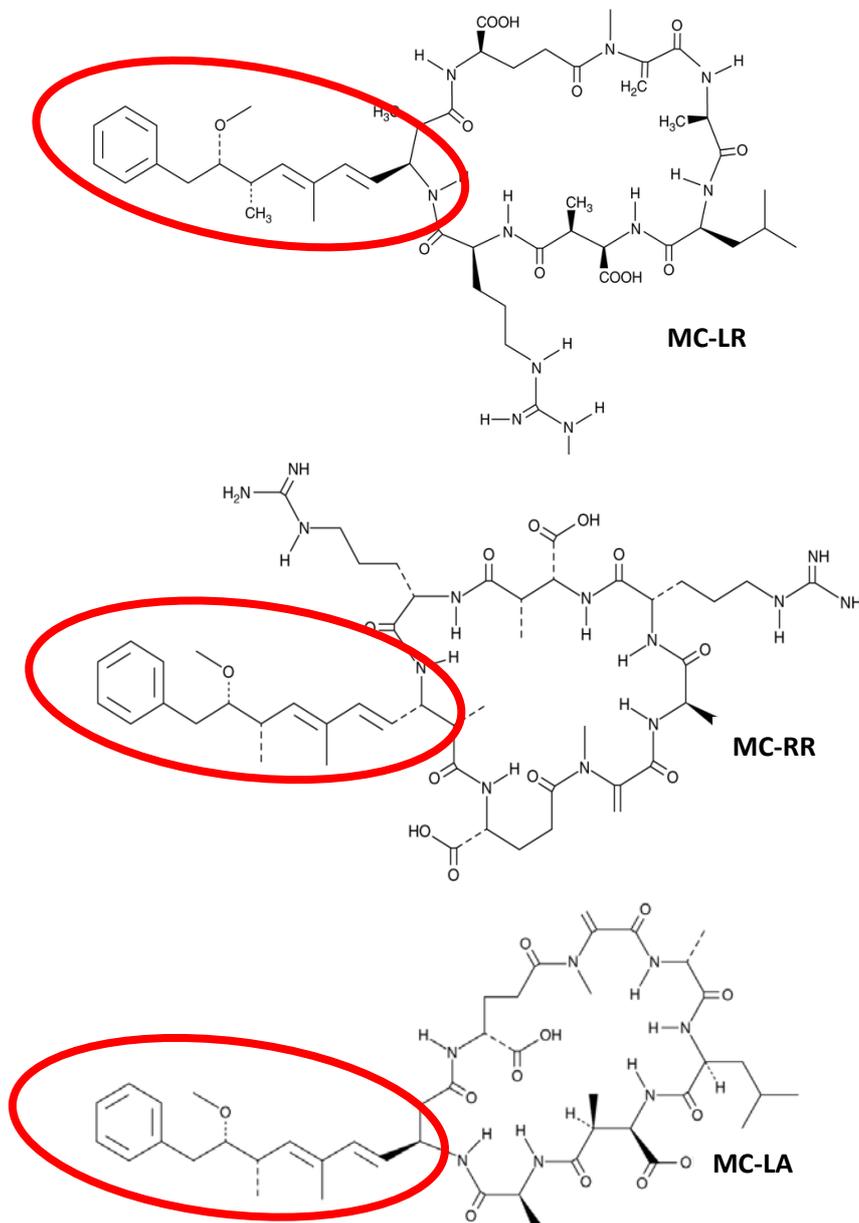


Fig. C15- Trois variantes de microcystines et leur groupement ADDA commun. Celui-ci doit être reconnu indifféremment (à quelques % près) par l'anticorps utilisé par les tests ELISA pour fournir un résultat en microcystines totales ($\mu\text{g/litre}$ équivalent MC-LR)

La comparaison entre méthodes s'est déroulée en 3 temps:

- *ELISA: tests bandelettes (semi-quantitatif) et microplaques (quantitatif)*

Cette comparaison a porté sur 15 échantillons: 11 eaux brutes contenant des biomasses de 0.82 à 26 mm³/l de cyanobactéries pour 37 500 à 260 000 cell/ml, et 4 témoins dosés à 0, 1, 2 et 5 µg/l de microcystine.

62

Les bandelettes, microplaques et témoins étaient tous de marque Abraxis (Warminster, PA, USA) distribués en France par Novakits sarl (Nantes), achetés en vue du test et utilisés dans leurs conditions respectives de validité. S'agissant de matériels utilisant une même technologie et provenant du même fournisseur, l'objectif était de vérifier si les indications fournies par les bandelettes et devant être reconnues visuellement étaient cohérentes avec les résultats quantitatifs obtenus avec les microplaques, puisque des écarts de résultats souvent importants ont été rapportés par au moins une étude (Watson et al. 2017).

Comparées avec les étalons pré-dosés, les bandelettes se sont avérées fiables, avec une nette différence entre les témoins à 0 (coloration identique des bandes témoin et test) et à 1, 2 et 5 µg/l (décoloration nette et progressive de la bande test). L'une des bandelettes n'a pas fonctionné, obligeant à refaire le test.

Comparées avec les eaux brutes, après lyse cellulaire tous les échantillons se sont avérés positifs aux microcystines. Trois échantillons étaient observés comme "proches de 2.5 µg/l" avec une décoloration marquée de la bande test; les microplaques ont indiqué des MCs comprises entre 2.5 et 5.3 µg/l.

Les 8 autres échantillons ont donné des résultats notés comme "de 5 à 10 µg/l" avec une décoloration très nette de la bande test. Les essais sur microplaques ont indiqué des MCs variant de 3.6 à 14.5 µg/l, là encore cohérents avec les observations de bandelettes.

Si les résultats des bandelettes et des microplaques étaient cohérents pendant tout l'essai, au final 5 bandelettes sur 15 n'ont pas fonctionné correctement, obligeant à refaire les tests. Le dysfonctionnement observé consistait en une mauvaise absorption de l'échantillon entraînant un arrêt net du front de migration vers la zone test de la bandelette (fig. C16 et C17 page suivante).

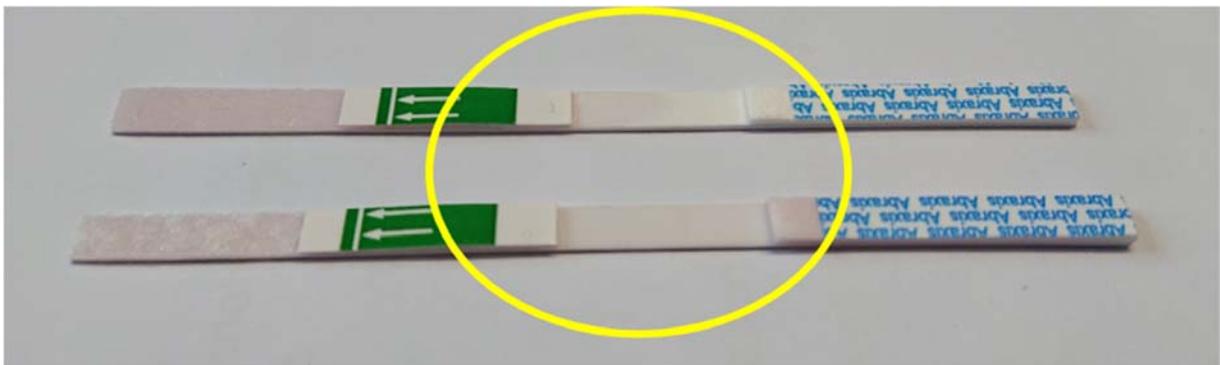


Fig. C16- Deux bandelettes dont une qui dysfonctionne (en haut). Une bandelette fonctionnelle doit absorber l'échantillon sur toute la longueur de la zone test, ce qui est visible par la coloration rose de la zone tampon sous l'autocollant Abraxis. La bandelette du haut a arrêté d'absorber un peu avant le milieu de la zone test.

Cet arrêt de la migration se traduit par une coupure de la coloration dans la zone d'absorption: rose dans la zone avec échantillon, alors qu'elle reste blanche au-dessus. Dans tous les cas, les bandelettes incriminées ont été remplacées par Novakits sur simple demande et sans frais supplémentaires.



Fig. C17- Autre exemple de bandelettes défailtantes (essai "eaux brutes"). Noter la différence de coloration des zones test et zones tampons sur les bandelettes de droite: la première a absorbé sur 1/3, la seconde n'a rien absorbé.

- ELISA (microplaques) et LC/MS (quantitatif)

Cet essai a été réalisé par comparaison de 75 points analysés pour les MCs. Les recherches de toxines ont été réalisées en parallèle par Laboceca (Brest) ou le LDA 56 en LC/MS/MS avec 10 variantes recherchées, et par nos soins sur microplaque ELISA pour déterminer les correspondances entre méthodes quantitatives.

Les 75 échantillons analysés sont issus de baignades et prises d'eau bretonnes; ils ont été collectés et analysés pendant les étés 2017 à 2019, ainsi que 6 échantillons prélevés dans l'Erdre dans le cadre de la présente étude en 2019.

Les résultats indiquent que, pour une limite de quantification similaire (0.2 µg/l en LC/MS/MS et 0.15 µg/l en ELISA), 48 % des résultats de LC/MS/MS faisaient apparaître des MCs, contre 93 % des analyses en ELISA.

En termes de fréquence de détection des MCs (fig. C18), quelle que soit la biomasse les résultats sont relativement constants en ELISA avec 85 à 100 % d'échantillons positifs. En LC/MS les détections sont moins fréquentes et comprises entre 38 et 70 %. Les deux méthodes montrent cependant une distribution similaire, avec des pics de détection (peu marqués en ELISA) pour les biomasses minimales (2 mm³/l) et maximales (50 mm³/l).

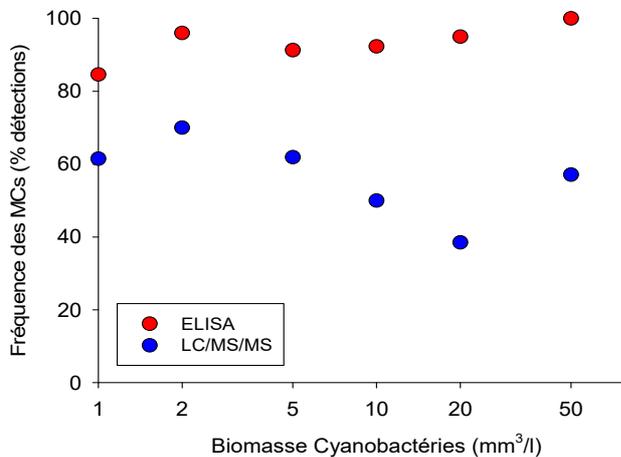


Fig. C18- Fréquences de détection des MCs en ELISA et LC/MS/MS en fonction de la biomasse de cyanobactéries

Les résultats quantitatifs exprimés en fonction de la biomasse (fig. C19) sont là aussi plus élevés en ELISA avec des concentrations moyennes comprises entre 1.2-4.3 µg/l, contre 0.4-2.1 µg/l en LC/MS. On retrouve à nouveau 2 domaines particuliers, avec de plus fortes concentrations pour 1 à 2 mm³/l (avec 1.1 à 1.9 µg/l), puis de 20 à 50 mm³/l (avec 2.1 à 4.3 µg/l) ; ces domaines correspondent aux biomasses présentant les plus fortes fréquences de détection.

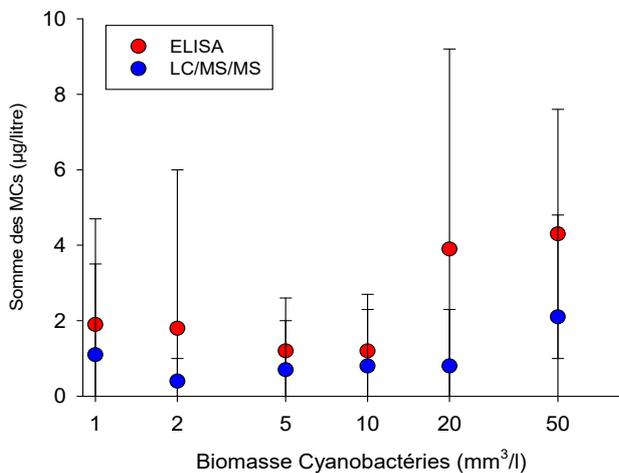


Fig. C19- Concentrations en MCs pour ELISA et LC/MS/MS (moyenne +/- écart-type) en fonction de la biomasse de cyanobactéries

La comparaison point à point des valeurs obtenues avec les 2 méthodes d'analyse (fig. C20) montre que, à l'exception d'un point (situé au-dessus de la droite identité sur la figure), tous les résultats obtenus en ELISA (soit 99 % des points) sont systématiquement supérieurs ou égaux aux valeurs des mesures en LC/MS. C'est l'argument principal avancé en faveur de l'ELISA : à titre préventif, elle permet des analyses rapides et peu coûteuses, avec une quasi-absence de faux négatifs, ce qui permet une première évaluation des risques dans l'attente des résultats fournis par les méthodes utilisées sous accréditation.

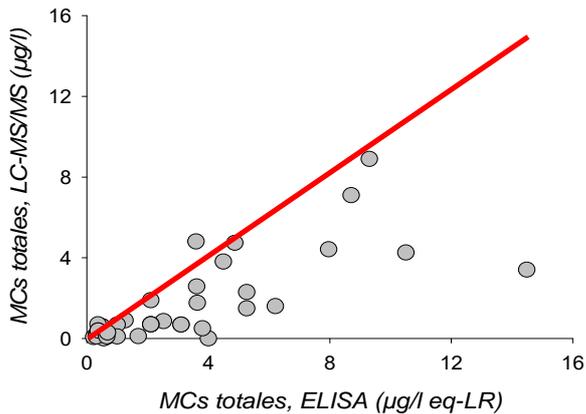


Fig. C20- Concentrations en MCs totales en LC/MS en fonction des concentrations mesurées en ELISA.

L'axe rouge correspond à la droite identité pour laquelle LC/MS = ELISA

L'écart de valeur entre les résultats a été comparé pour les 38 échantillons présentant des MCs quantifiables simultanément par les 2 méthodes. Il est en moyenne d'un facteur 3, mais selon les échantillons il peut varier entre 1 et 15.

Représenté en fonction de la biomasse des cyanobactéries, il est constamment décroissant au fur et à mesure que celle-ci augmente (fig. C21a). Il est également décroissant comparé aux concentrations mesurées en MCs quelle que soit la méthode d'analyse, en ELISA (fig. C21b) comme en LC/MS (fig. C21c).

Au final, d'après les données disponibles (dont toutes ne proviennent pas des analyses d'échantillons de l'Erdre) plus la biomasse de cyanobactéries et/ou plus les concentrations en MCs augmentent, plus l'écart entre les méthodes se réduit, donc plus leurs résultats seront proches : une concentration élevée en MCs obtenue par test bandelette devra immédiatement être considérée comme un indicateur d'alerte en attendant les résultats d'analyse réglementaire.

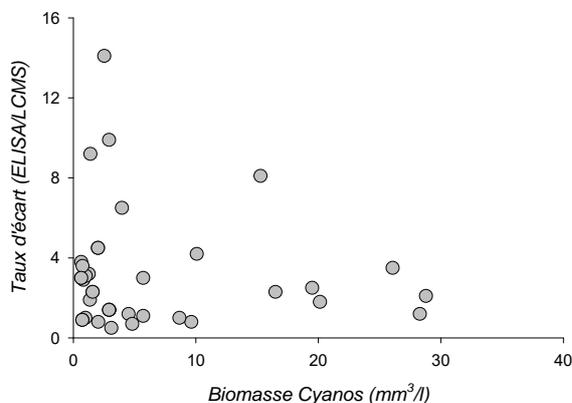
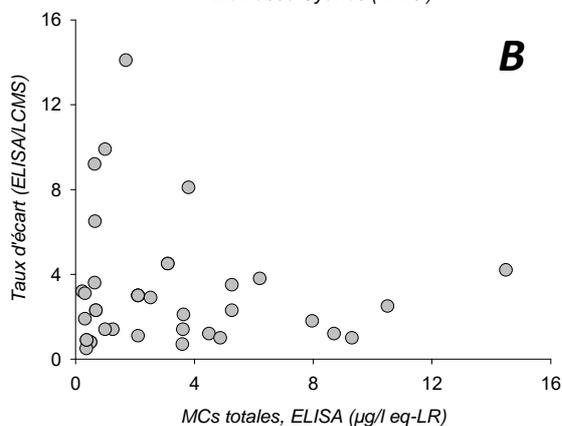
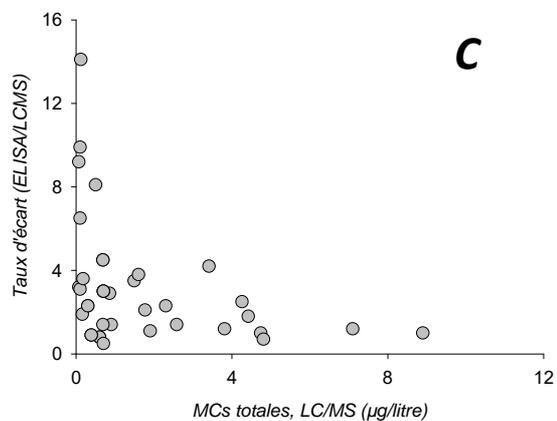


Fig. C21- Facteur d'écart entre ELISA et LC/MS pour les MCs en fonction de la biomasse totale des cyanobactéries (A) et de la concentration finale en MCs.



B



C

• *Origine possible des écarts entre méthodes*

Au vu des précédents points, on peut avancer plusieurs hypothèses pour expliquer l'écart souvent important entre les deux méthodes d'analyse. Ces écarts ont par ailleurs déjà été rapportés dans la littérature: Graham et al. (2010); Trifiro et al. (2016), He et al. (2017)... Leur origine n'a pas été réellement élucidée; depuis Lawrence et al. (2001) ou Rapala et al. (2002), on considère qu'ils sont liés au nombre de variantes de MCs présentes dans l'échantillon, et que l'analyse d'un plus grand nombre de variantes peut réduire les différences.

1- L'ELISA quantifie des formes de MCs qui ne sont pas prises en compte par les laboratoires de suivi :

La méthode ELISA n'étant pas discriminante vis-à-vis des variantes reconnues, elle peut quantifier indifféremment toutes les formes de MCs même si certaines ne peuvent pas être confirmées par les analyses de routine faute d'étalonnage spécifiques.

Les résultats de l'étude multi-toxines de 2007-2010 montrent que, dans les faciès dominés par les *Planktothrix*, les concentrations des variantes déméthylées de MCs pouvaient compter pour 2 à 5 fois celle des variantes classiques (-LR, -RR et -YR).

Les analyses de 2019 ont permis de confirmer la présence de variantes (LR déméthylée, LW) qui ne sont pas recherchées par le suivi de routine. Leurs concentrations ne suffisaient pas à expliquer l'écart entre méthodes, mais le nombre d'analyses réalisées était insuffisant pour totalement confirmer ou infirmer l'hypothèse. Il est donc possible qu'une partie des écarts soit bien liée à cette absence de prise en compte de certaines formes de MCs.

2- L'ELISA quantifie un groupement commun à toutes les MCs

Comme indiqué dans le chapitre bibliographie, toutes les MCs et les Nodularines partagent un groupement commun (groupement ADDA). Au cours de la biosynthèse de la microcystine, qui comporte 11 étapes, le groupement ADDA peut être identifié dans les 8 étapes précédant le repli final ("cyclisation") aboutissant à la constitution de la toxine (Dittman et al. 2013 *in* Bernard, 2014: fig. C22 page suivante).

Au cours de la dégradation de la microcystine une fois relarguée dans la masse d'eau, la molécule est hydrolysée sous l'action de la lumière (photolyse) ou du métabolisme bactérien avec au moins 3 étapes successives (fig. C23 page suivante).

Ces différentes étapes de synthèse et de dégradation se traduisent donc par la production de molécules dont la toxicité n'est pas documentées, et qui seront reconnues par un anticorps anti-ADDA mais ne seront pas identifiées par des analyses chimiques classiques. Elles peuvent donc également contribuer à ces écarts inter-méthodes.

On peut d'ailleurs noter que les écarts sont maxima à la fois pour les plus faibles biomasses de cyanobactéries et les plus faibles concentrations en MCs. On peut faire le parallèle entre ces observations et la production plus importante de toxines souvent observée au début des phases de croissance des cyanobactéries: dans ce cas on peut supposer que les écarts sont le plus souvent liés à la présence de précurseurs de MCs qui ne peuvent être reconnus comme des toxines par l'analyse chimique.

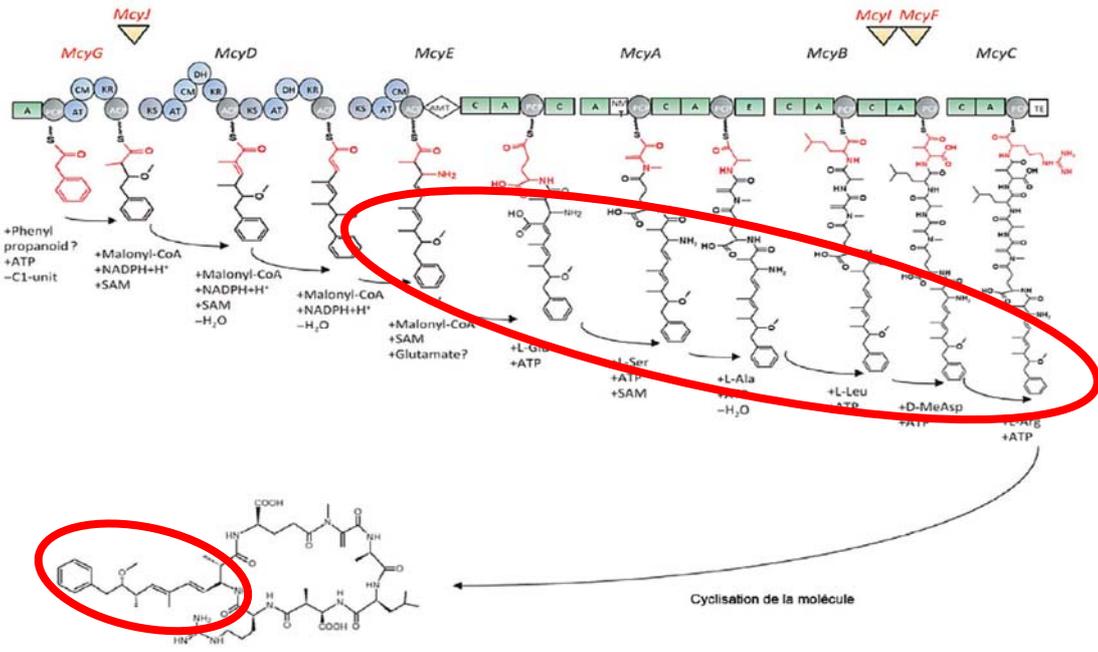


Fig. C22- Etapes de synthèse de la Microcystine (in C. Bernard, 2014) et visualisation des étapes où le groupement ADDA est identifiable

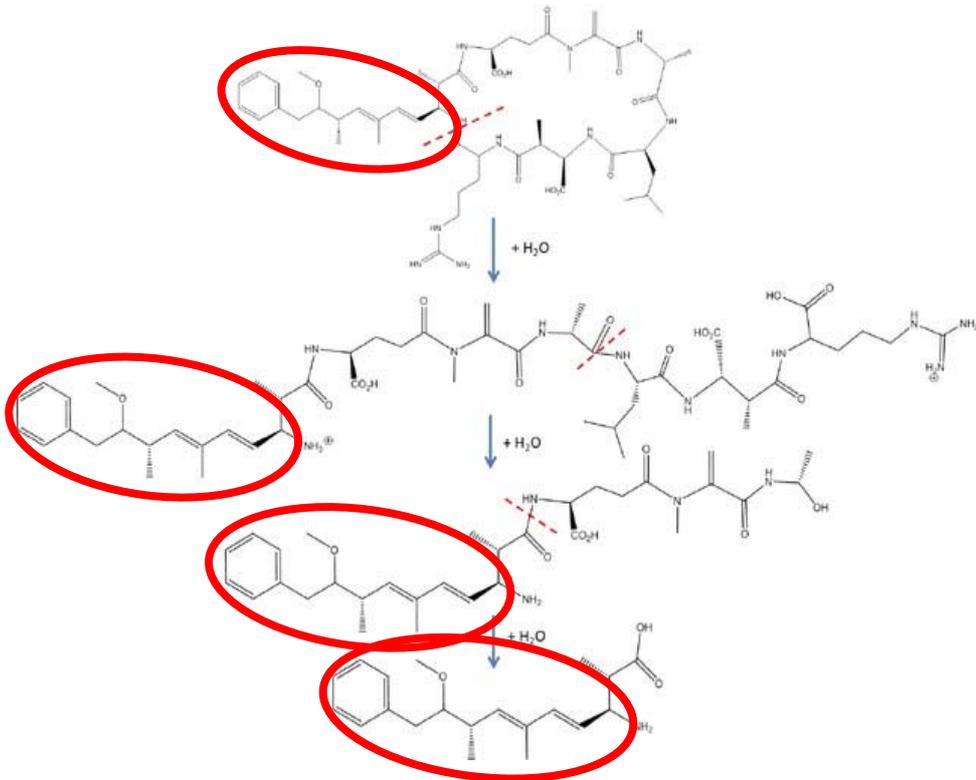


Fig. C23- Etapes de dégradation de la Microcystine (in Schmidt et al., 2014) et visualisation des étapes où le groupement ADDA est identifiable

4- Vérifier la pertinence des protocoles sanitaire et scientifique existants et améliorer leur efficacité par rapport aux enjeux.

- La recherche des toxines est actuellement déclenchée par la densité cellulaire des cyanobactéries. L'examen des chroniques montre que les MCs sont détectées dans près de 70 % des échantillons contenant 20 à 50 000 cell/ml et 93 % des échantillons contenant 50 à 100 000 cell/ml.

L'analyse des données a par ailleurs montré que des concentrations supérieures à 1 µg/l de MCs pouvaient être attendues à partir de biomasses atteignant au moins 0.5 mm³/l, ce qui représente environ 12 000 cell/ml de *Planktothrix*, 8 500 cell/ml d'*Aphanizomenon*, ou encore 3 500 à 5 000 cell/ml de *Microcystis* ou d'*Anabaena*.

Nous proposons d'étendre le seuil de recherche des MCs à cette limite de 0.5 mm³/l. Le calcul de la biomasse des cyanobactéries peut être réalisé systématiquement sans modifier le protocole d'analyse actuel, en multipliant la densité cellulaire de chaque taxon par une constante qui est la valeur moyenne du volume cellulaire pour chaque espèce observée : il n'y a donc pas de changement de l'effort de comptage par échantillon.

- Compte-tenu de la fréquence d'observation des toxines dans l'Erdre (près de 3 fois plus élevée que dans les autres départements étudiés), et de la présence de MCs à des niveaux significatifs même si les effectifs de cyanobactéries paraissent faibles, la recherche de microcystines avec les tests terrain (bandelettes) devrait être réalisée chaque semaine indépendamment du suivi sanitaire dès lors que le seuil de 0.5 mm³/l de cyanobactéries est atteint ou dépassé.

- Au vu des résultats disponibles dans l'Ouest pour des populations de cyanobactéries similaires, il apparaît que les formes de microcystines recherchées dans le cadre du suivi sanitaire sont incomplètes et devraient être étendues aux formes déméthylées de la microcystine, qui sont généralement les plus fréquentes dans les faciès à *Planktothrix*.

En dehors des épisodes à *Planktothrix* (qui durent chaque année jusqu'à 18 à 21 semaines), la présence des Nostocales, bien que plus discrète, est très fréquente avec des phases de dominance pouvant durer de 4 à 13 semaines par an, pour une récurrence de 8 années sur 10. Il nous paraît donc opportun d'étendre la gamme des toxines recherchées par le suivi sanitaire aux principales familles de toxines : Anatoxine, Saxitoxines et Cylindrospermopsines. Des programmes analytiques comprenant les principales MCs (classiques et déméthylées), ATX, STX et CYN sont déjà utilisés par plusieurs laboratoires de routine (ex : en Bretagne) et pourraient être implémentés par le laboratoire en charge du suivi sanitaire de l'Erdre.

- Enfin, une fois libérées dans l'eau, la durée de vie des toxines est variable. Les ATX sont des molécules instables dont la dégradation est rapide à pH alcalin et fort ensoleillement, conditions courantes en été. Elles peuvent cependant perdurer pendant 5 à 10 jours si elles sont adsorbées à la surface de sédiments ou de MES (Christensen & Khan, 2020). Les MCs, STX et CYN ont une durée de vie plus longue, fonction de la température et des populations bactériennes locales. Ho et al. (2012) ont ainsi mesuré des demi-vies moyennes de 4 jours pour les MCs et STX et 9 jours pour les CYN, avec une amplitude de 3 à 20 jours.

Ceci implique qu'en cas de présence de toxines, il peut être nécessaire de poursuivre les analyses après les pics de production pour vérifier leur disparition du milieu. Ces analyses devraient être maintenues aussi longtemps que les concentrations en toxines seront supérieures aux seuils d'alerte sanitaire, et être réalisées indépendamment de la concentration en cyanobactéries pour ne pas sous-estimer les risques en cas de lyse cellulaire massive.

D- Perspectives d'évolution de l'Erdre

1- Analyser les facteurs influençant l'évolution des cyanobactéries et des périodes d'efflorescences, puis prévoir des tendances d'évolution des cyanobactéries

69

Analyser l'évolution des Cyanobactéries depuis 2004 et prévoir des tendances à plus ou moins long terme nécessite de définir clairement les questions à aborder. Le but de l'Observatoire est de collecter des informations de nature environnementales (physico-chimie, diversité) et de santé publique (concentrations en Cyanobactéries et en toxines). Evaluer des tendances demande donc de s'interroger sur les mécanismes de l'eutrophisation, qui régule la production primaire, en relation avec les occurrences de toxines et leurs concentrations.

Le descripteur choisi sera donc une fois de plus la biomasse (et non les effectifs), qui seule permet de relier facteurs écologiques (climat, nutriments) et aspects sanitaires (occurrences des proliférations, concentrations en toxines).

Dans le chapitre qui suit, nous allons donc:

- Evaluer les relations existantes entre biomasse phytoplanctonique et paramètres physico-chimiques de l'environnement
- Illustrer leur évolution prévisible à moyen terme (30 ans)
- Combiner observations et perspectives dans un modèle permettant une estimation quantitative de l'évolution des biomasses du phytoplancton dans l'Erdre
- Etendre cette estimation aux Cyanobactéries et à leurs toxines

La première étape a visé à réduire le choix des paramètres explicatifs de la biomasse planctonique au maximum afin de ne pas surcharger les simulations avec des variables inutiles ou redondantes. Certains paramètres sont en effet évidents: c'est le cas de la température et de la charge en phosphore, qui sont connus depuis longtemps comme les premiers déterminants des taux de croissance cellulaire des algues : voir par exemple Moss (2011); O'Neil (2012) ou Paerl & Otten (2013) pour le phosphore, et Wiedner et al. (2007), Paerl & Huisman (2008), Havens et al. (2016), Mantzouki et al. (2018) pour la température, et leurs interactions dans un contexte de changement climatique.

Le renouvellement des eaux est un paramètre souvent négligé, dont pourtant de nombreuses études ont montré qu'il pouvait influencer comme activateur ou répresseur de la croissance cellulaire (Mitrovic et al. 2011, Romo et al. 2013, Huang et al. 2014, Cha et al. 2017...).

L'azote en soi est un nutriment majeur sous ses formes assimilables (NO_3 et NH_4). Il est cependant très facilement disponible dans l'Erdre, comme le montre le rapport N/P (l'un des ratios de Redfield, voir Tett et al. 1985). Dans la pratique, n'étant jamais limitant comparé au phosphore, l'utilisation des nitrates et de l'ammoniaque seront régulées par les concentrations en phosphore disponible, et n'apporteront pas d'information utile. Nous avons préféré retenir 2 indicateurs dérivés:

- l'un représente les variations de disponibilité du phosphore, élément majeur limitant dans l'Erdre, par rapport à l'azote (le rapport Ntotal/Ptotal),

- l'autre représente la distribution des formes oxydées ou réduites de l'azote, puisque les formes réduites sont préférentiellement consommées par les Cyanobactéries alors que les formes oxydées sont indifféremment consommées par tous les taxons eucaryotes : voir par exemple Pelmont (1993), pour les aspects métaboliques, et Harris et al. (2016) pour l'impact sur la biomasse et les toxines.

• *Température*

Tous les embranchements montrent un effet positif de la température (fig. D1), avec une augmentation vers un maximum qui tend à ralentir ou s'inverser pour les températures les plus élevées. Au-delà de 20°C, la biomasse maximale tend à plafonner pour les Chlorophycées et Dinophycées, alors qu'elle continue à augmenter pour les Cyanobactéries et les Xanthophycées. Trois groupes montrent des biomasses en diminution au-delà d'un optimum: les Chrysophycées pour 20°C, les Euglènes pour 20.5°C et les Diatomées pour 21°C.

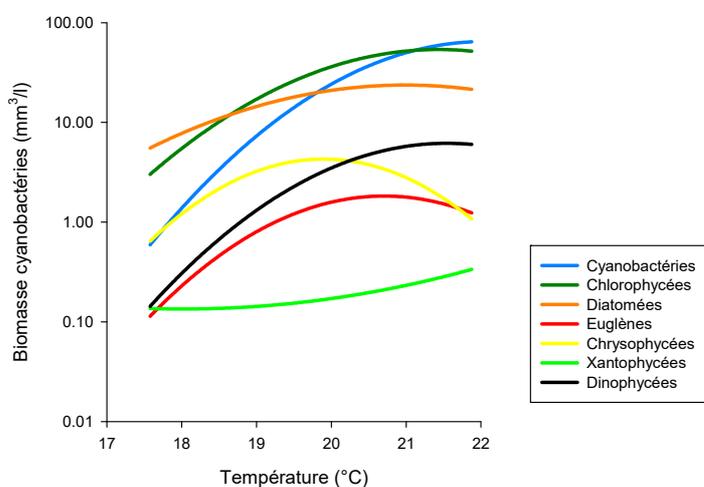


Fig. D1- Relations entre biomasse planctonique et température de l'eau

• *Renouvellement des eaux*

Tous les embranchements montrent un effet négatif du renouvellement des eaux sur leur biomasse, avec toutefois des sensibilités variables (fig. D2). Les premières affectées sont les Cyanobactéries (qui ont la plus forte pente décroissante), suivies des Dinophycées, des Euglènes et des Chlorophycées. Les Diatomées, Chrysophycées et Xanthophycées suivent des pentes décroissantes plus faibles, se traduisant par des biomasses relativement plus importantes que les autres embranchements dans des contextes de faible temps de séjour.

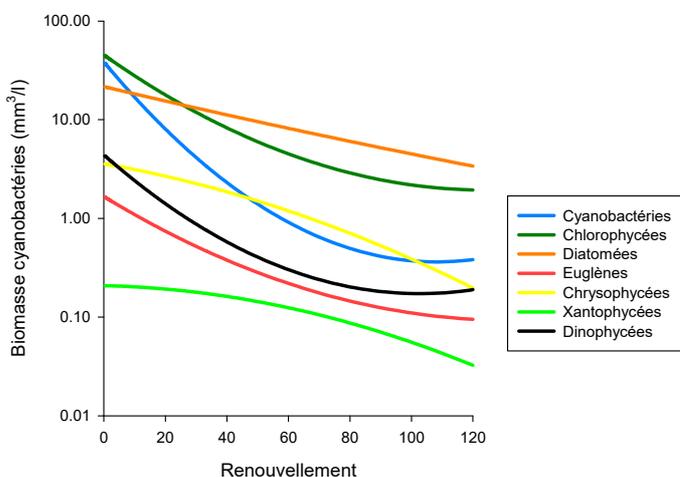


Fig. D2- Relations entre biomasse planctonique et renouvellement des eaux

• Distribution des nutriments

Tous les groupes sont négativement affectés par un rapport N/P qui augmente (fig. D3), c.a.d. un milieu appauvri en phosphore. Là aussi la sensibilité est variable selon les embranchements: les pentes les plus fortes sont associées aux Cyanobactéries, puis aux Euglènes, Chlorophycées, Dinophycées et Chrysophycées. Les Diatomées et Xanthophycées suivent des pentes plus faibles et convexes, indiquant qu'elles peuvent maintenir des biomasses relativement plus importantes que les autres groupes en cas de diminution du phosphore par rapport à l'azote.

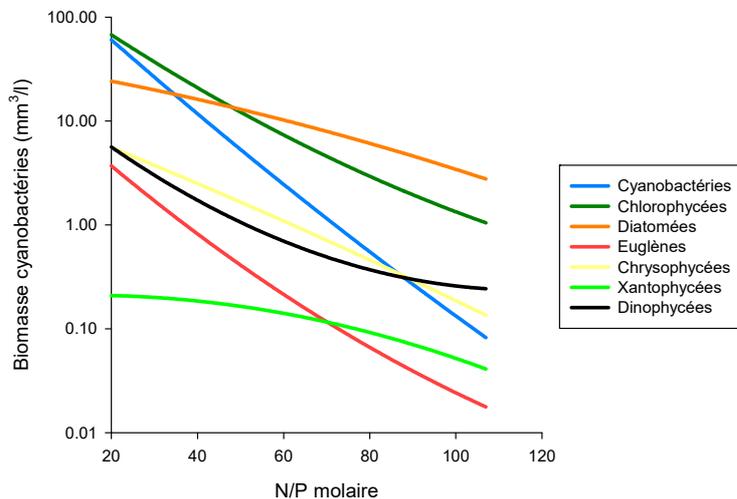


Fig. D3- Relations entre biomasse planctonique et ratio de Redfield

• Phosphore

Comme pour la température, tous les groupes montrent un effet positif du phosphore sur la biomasse (fig. D4), avec des sensibilités différentes d'un embranchement à l'autre. Les pentes initiales sont plus fortes pour les Cyanobactéries, suivies par les Chlorophycées, les Euglènes, les Diatomées, les Chrysophycées et Dinophycées, et enfin les Xanthophycées. Cyanobactéries, Chlorophycées et Diatomées sont donc les plus susceptibles d'augmenter rapidement leur biomasse maximale dès les plus faibles charges en phosphore, ce qui explique leur position d'embranchements majeurs dans tous les échantillons.

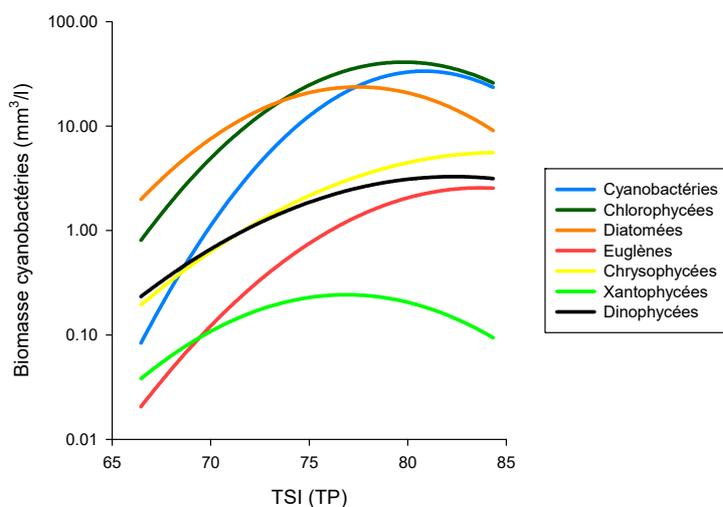


Fig. D4- Relations entre biomasse planctonique et charge en phosphore

• Formes de l'azote

Tous les embranchements sont positivement affectés par l'augmentation de la fraction réduite de l'azote (fig. D5), avec une pente initiale maximale pour les Cyanobactéries, suivie des Euglènes, Chlorophycées, Chrysophycées, Dinophycées, Diatomées puis Xanthophycées. Les cyanobactéries passent les premières par un maximum avant que leur biomasse ne diminue (0.6 à 0.7), suivies par les Chrysophycées, les Diatomées et les Euglènes. Les Chlorophycées, Dinophycées et Xanthophycées suivent par contre une pente toujours positive dans tout le domaine des valeurs rencontrées dans l'Erdre, ce qui leur permet d'atteindre leurs biomasses maximales dans les milieux les plus chargés en azote réduit.

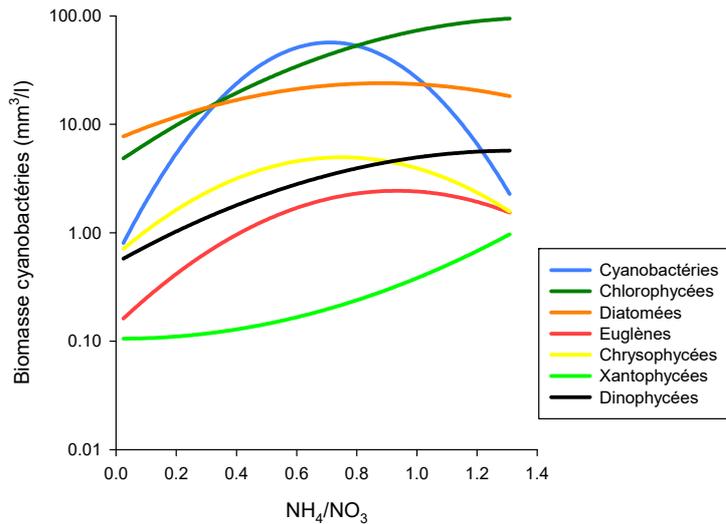


Fig. D5- Relations entre biomasse planctonique et formes assimilables de l'azote

2- Evolution de l'environnement de l'Erdre fluviale

Une fois posées les relations entre biomasse planctonique et conditions environnementales, il est nécessaire de s'intéresser à l'évolution des paramètres explicatifs, climatiques, hydrologiques et trophiques.

- **La température** apparaît naturellement comme le premier paramètre à évaluer dans un contexte de changement climatique. Bien que les séries disponibles sur Nantes soient relativement courtes (depuis 1972), il est facile de faire apparaître une tendance au réchauffement avec un taux de +3°C par siècle (fig. D6), aussi bien pour l'année complète que pour les périodes favorables (mai à octobre) ou défavorable (octobre à mai) pour le plancton.

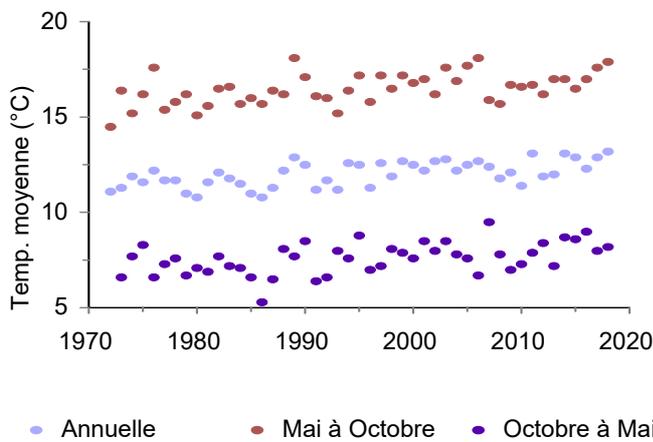


Fig. D6- Evolution des températures moyennes à Nantes depuis 1972

Pourtant, si les taux de réchauffement sont identiques à l'échelle de l'année, pris dans le détail le climat océanique est trop brouillon pour que l'évolution soit clairement visible, ni homogène mois par mois (fig . D7).

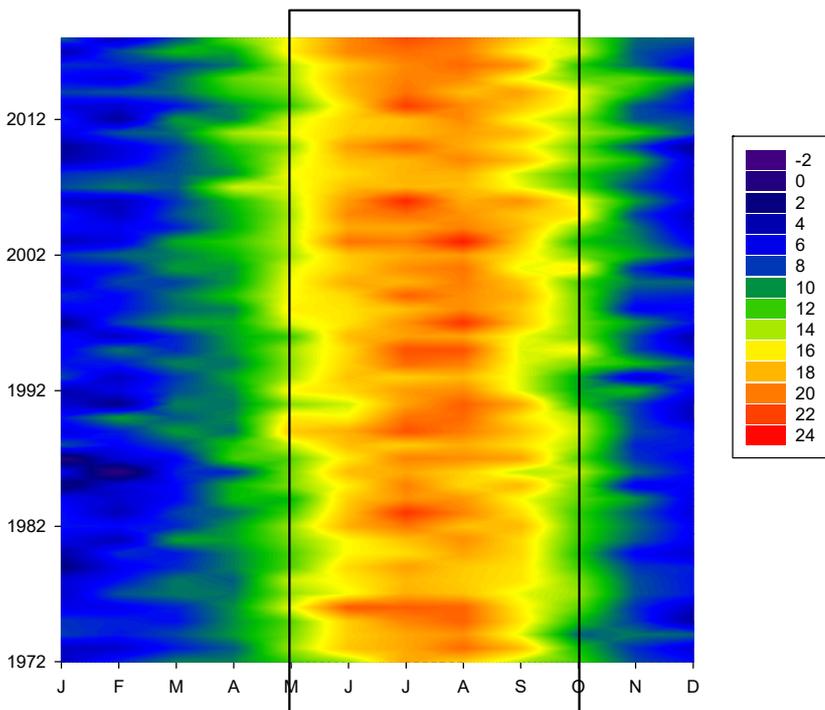


Fig. D7- Températures moyennes mensuelles à Nantes depuis 1972.

Encadré : période de croissance du plancton

Pour clarifier l'évolution des températures, il est nécessaire de recalculer les tendances pour chaque mois sous forme de régression linéaire. On obtient alors une représentation filtrée plus lisible des températures mensuelles (fig. D8).

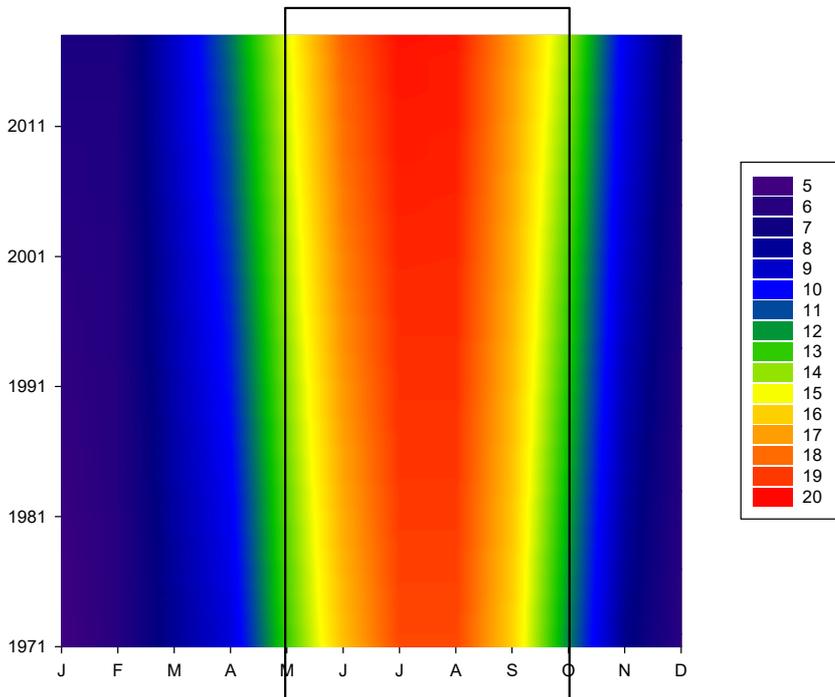


Fig. D8- Températures moyennes mensuelles (en °C) filtrées à Nantes depuis 1972.
Encadré : période de croissance du plancton

Cette représentation permet de faire apparaître plus clairement l'augmentation des températures, qui est concentrée sur les mi-saisons : les mois d'avril à juin suivent une pente à +3.5 à +4.5°C par siècle, et les mois d'octobre et novembre à +4 à +4.5°C par siècle. Ceci est visible, par exemple, au travers de l'étalement des lignes à 15°C, qui se sont étendues de la mi-mai à début mai, et de début septembre à mi-septembre. Le réchauffement des mois d'été est plus modéré, avec +2°C par siècle pour juillet et août.

Si on soustrait ces tendances aux observations météo, on peut obtenir la distribution des écarts à la tendance (fig. D9). Ceux-ci représentent la variabilité naturelle de la température hors tendance au réchauffement. On définit habituellement le bruit de fond comme un écart-type, c'est-à-dire que des conditions normalement chaudes ou fraîches seront situées entre +0.7°C et -0.7°C de part et d'autre de la tendance, et ont été rencontrées 33 ans sur 47 (soit près de 3 années sur 5). Les conditions exceptionnellement chaudes ou fraîches sont situées au-delà de cet écart-type, et ont été rencontrées 14 années sur 47 (soit un peu plus d'une année sur 5).

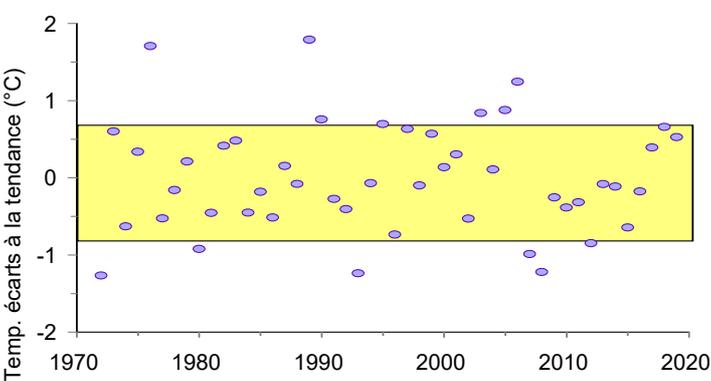


Fig. D9- Températures : écarts à la tendance depuis 1972 pour la période mai-octobre.
Encadré : amplitude d'un écart-type définissant les conditions normales

Si on applique ce filtrage aux autres paramètres environnementaux, il apparaît que:

- *le rayonnement global* (fig. D10) est en augmentation de 47 kW/m² par siècle pour la période mai-octobre et 59 kW/m² par siècle pour la période hivernale. Comme pour la température, cette évolution se traduit principalement par une extension des maximales vers les mi-saisons, avec depuis 1985 des augmentations de 13 à 20 % pour les mois de février à avril, de 5 à 7 % en juin et juillet, et 5 à 12 % en septembre et octobre.

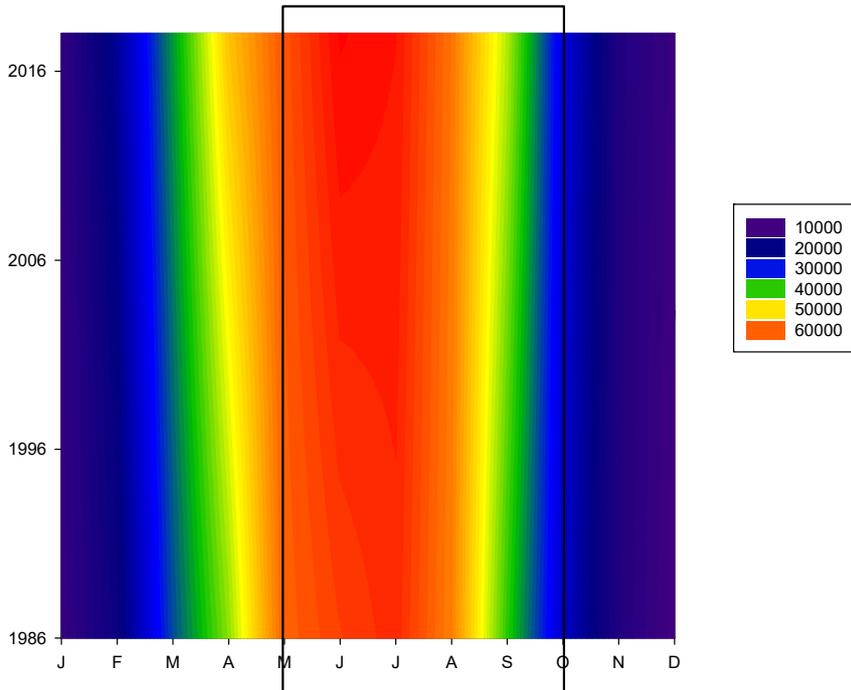


Fig. D10- Rayonnement global mensuel (en W/m²) filtré à Nantes depuis 1985.

Encadré : période de croissance du plancton

La variabilité naturelle peut alors être évaluée à +/- 17 kW/m² pour l'année complète, et +/- 12 kW/m² pour la période mai-octobre (fig. D11).

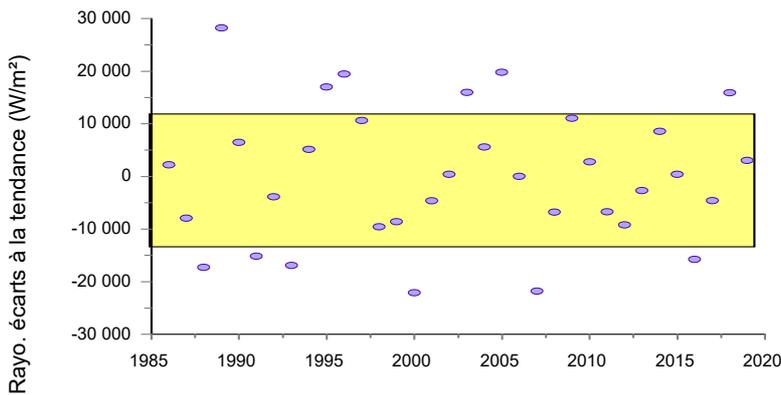


Fig. D11- Rayonnement global: écarts à la tendance depuis 1985 pour la période mai-octobre.

Encadré : amplitude d'un écart-type définissant les conditions normales

• **La pluviométrie** apparaît également en légère augmentation, avec + 58 mm par siècle pour mai-octobre et + 136 mm par siècle pour la période hivernale. Alors que quelques mois tendent à être plus secs (février, mars, mai, juillet, septembre), les précipitations augmentent régulièrement de +35 à +50 mm/siècle en avril, juin, et d'octobre à décembre. Ceci se traduit par des fins de printemps plus humides et des fins d'été plus sèches, compensées par des pluies d'automne plus précoces et plus importantes à partir du mois d'octobre (fig. D12).

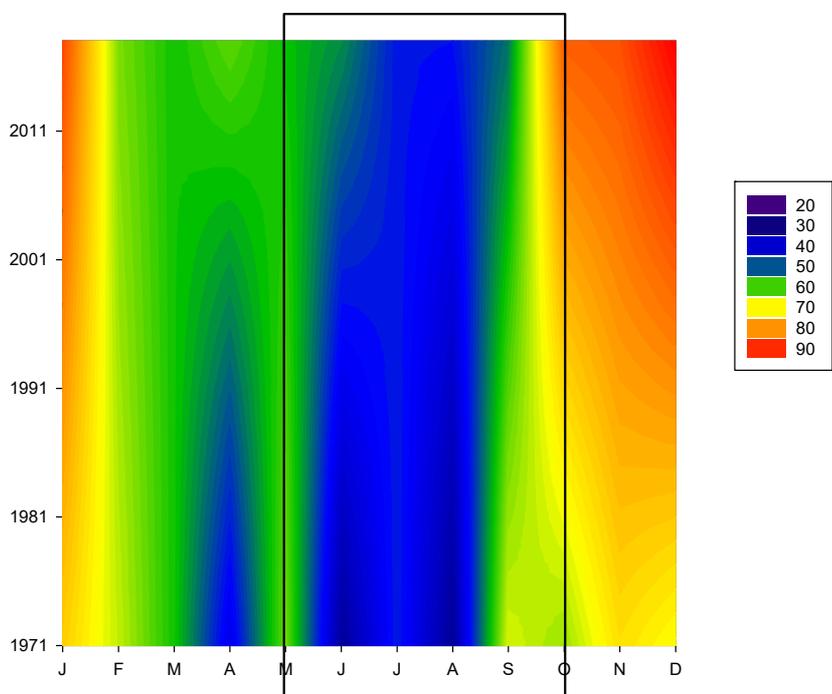


Fig. D12- Pluviométrie cumulée mensuelle (en mm) filtrée à Nantes depuis 1972.

Encadré : période de croissance du plancton

La variabilité naturelle de la pluviométrie (fig. D13) correspond alors à +/- 87 mm pour mai-octobre et +/- 107 mm pour la période octobre-mai. On peut d'ailleurs noter que les années exceptionnelles (très sèches ou très humides) sont légèrement plus fréquentes que les années exceptionnelles sur le plan de la température et du rayonnement: 17 années sur 47, soit près de 2 années sur 5.

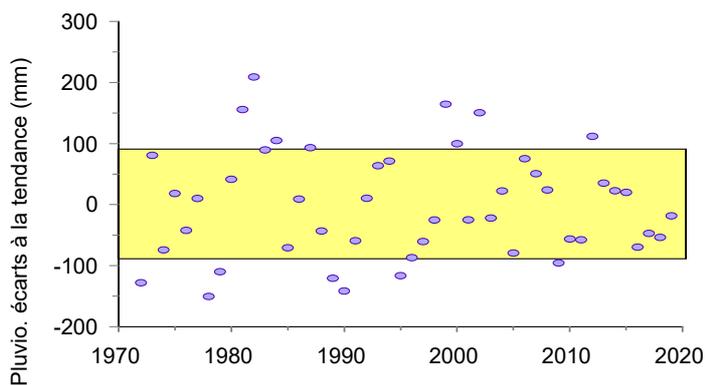


Fig. D13- Pluviométrie: écarts à la tendance depuis 1972 pour la période mai-octobre.

Encadré : amplitude d'un écart-type définissant les conditions normales

• *Le débit de l'Erdre*, enfin, est le paramètre à partir duquel sont calculés les temps de séjour ou les taux de renouvellement. Quelle que soit la station considérée, il tend à diminuer en fin d'hiver (de mars à mai) mais à augmenter en début d'été. Il est par contre légèrement décroissant de juillet à septembre, puis franchement croissant à partir d'octobre (fig. D14).

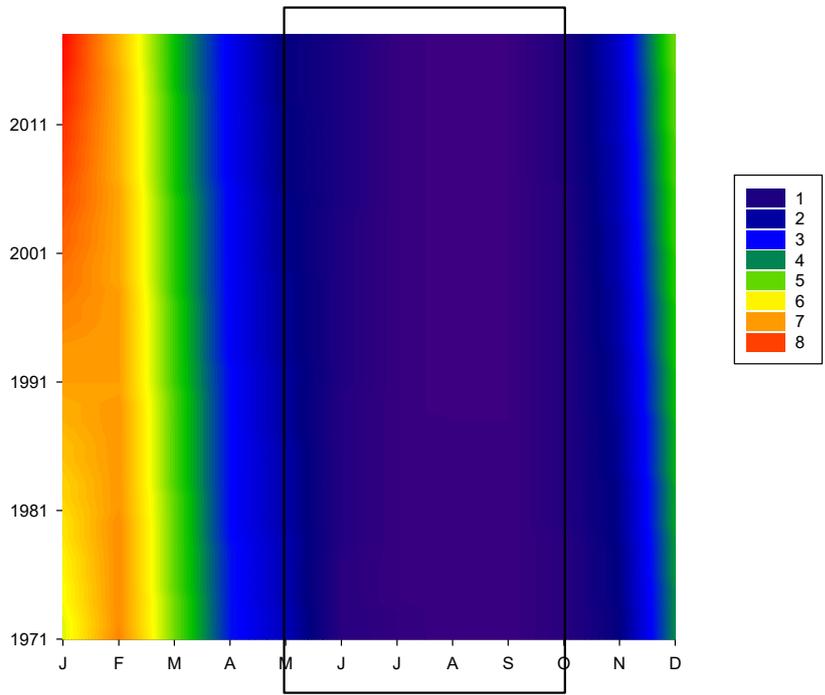


Fig. D14- Débit moyen mensuel (en m³/s) filtré à Nort s/Erdre depuis 1972.

Encadré : période de croissance du plancton

Dans l'ensemble, il suit donc la dynamique des précipitations de juin à octobre, mais pas au printemps où au contraire il diminue alors que les précipitations augmentent. Sachant qu'un taux de renouvellement faible est très favorable au développement de la flore, cette diminution peut être cruciale pour une apparition précoce des Cyanobactéries quand elle est conjuguée à l'augmentation des températures et du rayonnement aux mois de mars à mai.

Décomposée en fonction des différentes stations de suivi, la variabilité naturelle des taux de renouvellement atteint, entre mai et octobre, +/- 41 renouvellements en amont contre +/- 1.5 renouvellements en aval. Pour les périodes hivernales, elle atteint +/- +/- 223 renouvellements à Nort s/Erdre, contre +/- 8 renouvellements dans les 2 autres stations.

• *Le phosphore total* est renseigné par des séries courtes. Celles-ci apparaissent cependant globalement en hausse depuis 2007, après avoir connu des valeurs maximales en 2005 et 2006.

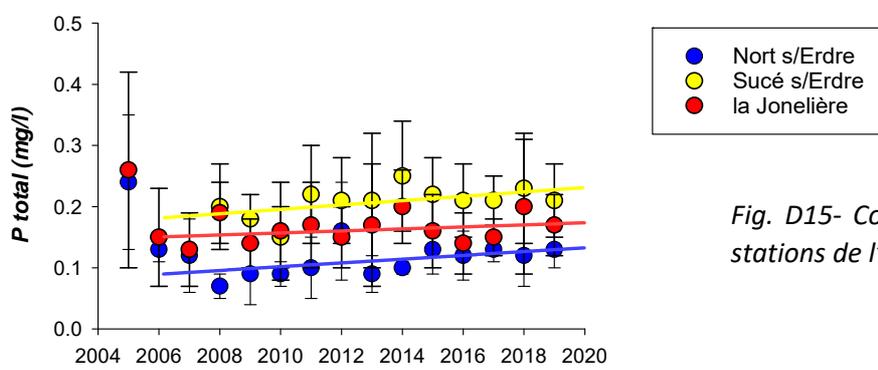


Fig. D15- Concentrations en P total dans les stations de l'Erdre depuis 2004

• *La distribution des formes d'azote*, enfin, ne montre pas de tendance particulière sur ces séries courtes. Elle sera considérée comme constante pour la suite, et égale à la moyenne des observations depuis 2004.

• **En résumé, les variables retenues pour les simulations** sur la période mai-octobre sont:

- Température moyenne: 16.9°C à Nort, 20.4°C en aval, +1°C sur 30 ans. Ecart moyen à la tendance: +/- 0.5°C; écart exceptionnel à la tendance: +/- 1.2°C.
- Rayonnement moyen: 316 900 W/m² + 15 kW/m² à 30 ans. Ecart moyen à la tendance: +/- 12 kW/m²; écart exceptionnel à la tendance: +/- 16 kW/m².
- Pluviométrie cumulée: 324 mm + 20 mm à 30 ans. Ecart moyen à la tendance: +/- 126mm; écart exceptionnel à la tendance: +/- 175 mm.
- Taux de renouvellement à Nort: 48 renouvellements, -3 à 30 ans. Ecart moyen à la tendance: +/- 37; écart exceptionnel à la tendance: + 100/- 50.
- Taux de renouvellement à Sucé et la Jonelière: 1.8 renouvellements, -0.1 à 30 ans. Ecart moyen à la tendance: +/- 1; écart exceptionnel à la tendance: + 4/- 1.5.

Concernant les nutriments:

- Tendance à l'augmentation du P total, extrapolée selon l'évolution illustrée dans la fig. D15
- Tendance à la diminution du rapport N/P corrélative à l'augmentation du phosphore
- Absence de variation de la distribution des formes réduites de l'azote

Les 5 combinaisons calculées seront alors, pour les conditions hydrométéorologiques:

- Scenario moyen: toutes valeurs moyennes, actuelles et à 30 ans
- Scenario chaud/sec: température et rayonnement + 1 écart-type, pluviométrie et renouvellement – 1 écart-type
- Scenario frais/humide: température et rayonnement - 1 écart-type, pluviométrie et renouvellement + 1 écart-type
- Scenario très chaud/sec: température et rayonnement + 1 écart-type max, pluviométrie et renouvellement – 1 écart-type max
- Scenario très frais/humide: température et rayonnement - 1 écart-type max, pluviométrie et renouvellement + 1 écart-type max.
- Pour tous les scenarii hydroclimatiques: teneurs en P total fixées à 0.12 mgP/l et 0.16 mgP/l en amont (Nort actuel et à 30 ans), contre 0.19 et 0.25 mgP/l en aval (actuel et à 30 ans); rapport N/P ajusté en fonction du P total.

3- Construction des simulations

Afin de simuler les évolutions possibles de l'Erdre, nous avons choisi d'utiliser un modèle polynomial dérivé des modèles linéaires généralisés, en raison de plusieurs critères:

- ces modèles sont bien adaptés à la représentation de variables continues simples telles que celles qui sont mesurées dans le cadre du suivi de l'Observatoire;
- ils sont de type prédictif, c'est-à-dire que la simulation restitue un résultat quantitatif dont on peut vérifier la vraisemblance en le comparant aux observations réelles disponibles dans les chroniques de suivi;
- ils constituent une généralisation d'un mode d'analyse compréhensible par tous: la régression linéaire simple. La différence majeure consiste à utiliser plusieurs variables explicatives simultanément au lieu d'une seule à la fois, et à pouvoir combiner différents types de fonctions pour relier les variables explicatives au paramètre qu'on cherche à évaluer (ici la biomasse maximale annuelle).

Parmi les intérêts principaux de ce type de modèle, on peut noter qu'il est basé uniquement sur des observations de terrain: il n'est pas nécessaire de connaître la forme des relations entre variables explicatives et biomasse, et les premiers essais montrent que les formes de ces relations sont suffisamment simples pour être approximées correctement par des fonction du premier (ax) ou deuxième ordre (bx²). Ensuite, relevant d'observations directes, il est facile de vérifier que les sorties sont vraisemblables, c.a.d. correspondent à ce qui a été mesuré sur le terrain depuis 2004.

Pour ses limites, on peut noter qu'il est délicat de sortir du champ des observations déjà réalisées puisqu'on ne peut pas connaître la forme des relations dans des gammes de valeurs trop éloignées des observations existantes.

Si on prend l'exemple de la relation entre biomasse et température de l'eau, par exemple (fig. D16), dans la gamme observée dans l'Erdre (jusqu'à 22°C), la plupart des embranchements montre un optimum entre 19 et 21°C, alors que les Cyanobactéries peuvent continuer à accumuler de la biomasse au-delà de 22°C.

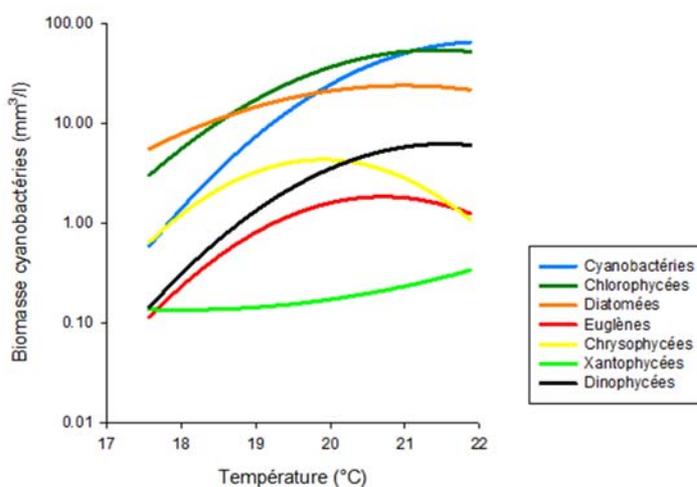


Fig. D16- Relation entre température et biomasse par embranchement: que se passe-t-il au-delà du domaine thermique déjà observé ?

En déduire ce qui se passerait au-delà d'une température trop éloignée de cette gamme est hasardeux: on peut facilement supposer que si l'optimum thermique est dépassé, de nouvelles espèces vont s'installer dans ce nouvel environnement alors que d'autres vont définitivement disparaître.

Dans ce cas les courbes pourront prendre une inflexion différente de leur allure actuelle, et la distribution finale des différents embranchements sera complètement différente des projections (Lüring et al. 2017).

Le choix des variables explicatives a été réalisé par essais successifs pour les réduire à une liste minimale. Nous en avons retenu 7 (3 climatiques, 1 hydrologique, 3 trophiques : fig. D17), sachant que pour chaque groupe de variables l'une d'elles représentait une contribution majeure au résultat: température pour les variables climatiques et P total pour les nutriments (le taux de renouvellement représentait seul les variables hydrologiques). Les mêmes variables ont été utilisées pour chaque modèle, puisqu'il a fallu en construire un par embranchement.

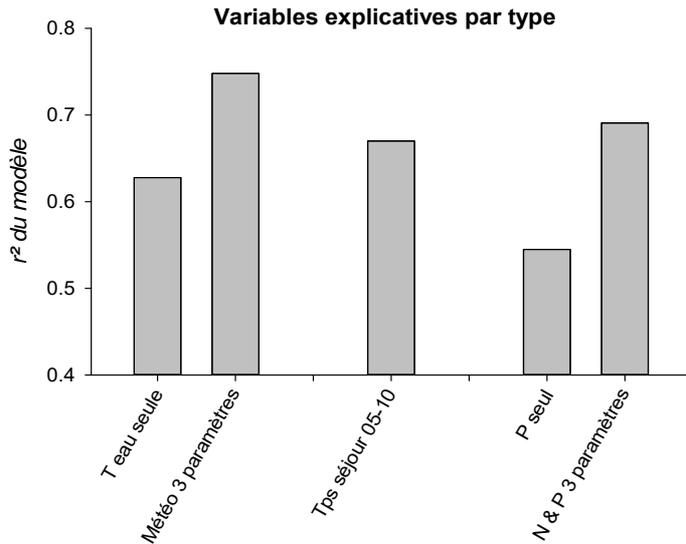


Fig. D17- R^2 du modèle pour les Cyanobactéries en fonction des combinaisons de variables explicatives

La forme des relations a été limitée à des polynômes du deuxième degré, qui fournissent un bon compromis entre simplicité et fidélité des simulations aux observations (fig. D18). Les fonctions linéaires se sont avérées généralement insuffisantes pour décrire des relations qui contiennent toutes une courbure simple, et les fonctions du 3^{ème} degré sont trop hasardeuses (double inflexion) en raison de leur tendance à fournir des résultats invérifiables dès qu'on sort de la gamme des observations.

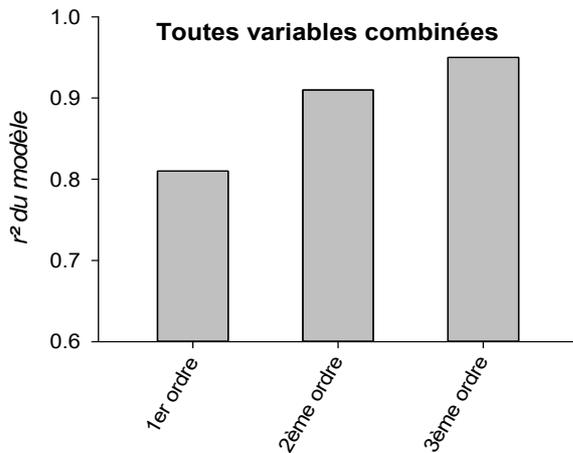


Fig. D18- R^2 du modèle Cyanobactéries en fonction du degré des fonctions testées. Avec un r^2 de 0.91 le second degré a été choisi comme suffisamment fidèle sans apporter les risques de réponse aberrante du 3^{ème} degré ($r^2 = 0.94$)

L'ajustement des modèles a ensuite été vérifié individuellement en comparant les relations entre biomasse observée (données de l'Observatoire) et simulées (sorties du modèle), dont on attend qu'elles suivent une distribution linéaire de pente la plus proche possible de 1 (fig. D19 : droite identité ; valeur simulée = valeur observée). Ceci permet également de vérifier que les résidus (écarts entre observation et simulation) suivent une distribution matérialisée par la droite de Henry des résidus (fig. D20).

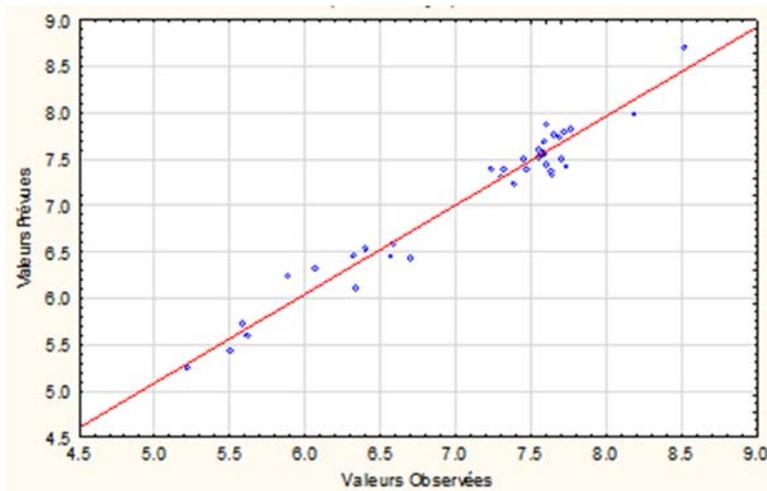


Fig. D19- Distribution des valeurs de biomasse observées et simulées pour les Cyanobactéries (échelle log-log)

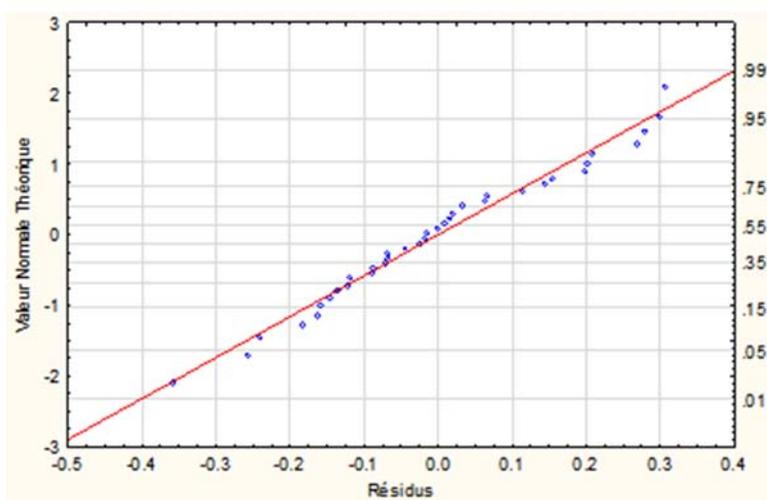


Fig. D20- Distribution des résidus pour les biomasses observées et prédites de Cyanobactéries

Au final, les modèles construits pour les embranchements majeurs montrent des r^2 compris entre 0.86 et 0.91 (Euglènes, Chlorophycées, Cyanobactéries). Les Diatomées sont les plus délicates à représenter (r^2 de 0.67 à 0.77 selon les options d'ajustement), ce qui peut être lié à des écarts entre les biomasses de la base Phytobs et celle des espèces de l'Erdre, et/ou indiquer qu'un paramètre qui leur est propre n'est pas pris en compte dans les modèles (ex : silice).

Les embranchements mineurs, plus rares, peuvent être quand même simulés (r^2 de 0.8 à 0.87) mais avec des écarts parfois importants sur les valeurs extrêmes faibles ou fortes de la biomasse. Leur distribution irrégulière dans les séries d'échantillons ne permet pas de leur attribuer un impact majeur sur l'évolution de la flore (notamment des Cyanobactéries) ni de choisir une direction pour corriger leurs modèles, aussi les Chrysophycées, Xanthophycées et Dinophycées n'ont pas été simulées dans l'étude des scénarii hydroclimatiques.

4- Résultat des simulations

Les illustrations qui suivent sont destinées à explorer l'impact de la charge en phosphore sur les biomasses attendues des principaux groupes planctoniques : Chlorophycées, Diatomées, Cyanobactéries et Euglènes. Au vu des différences entre Nort d'une part, Sucé et la Jonelière d'autre part, nous avons séparé les sorties entre amont (Nort) et aval (2 autres stations) de l'Erdre navigable.

Pour illustrer la place des principaux embranchements, nous avons dans un premier temps paramétré les modèles avec les valeurs moyennes amont et aval des variables explicatives, et calculé la biomasse maximale attendue en fonction des concentrations en Ptotal, portées en abscisse dans les 2 figures qui suivent. Les résultats sont exprimés en biomasse sèche (équivalent MES, en mg/l) pour un rapport poids sec/poids frais de 60 %.

41- Situation actuelle

Pour Nort s/Erdre (fig. D21), les Cyanobactéries peuvent atteindre des biomasses maximales supérieures aux autres groupes pour les concentrations extrêmes en P total (> 0.22 mgP/l). Pour des concentrations plus faibles, les maximales sont représentées en partie par les Chlorophycées vers 0.2 mgP/l, mais surtout dans l'essentiel du domaine trophique par les Diatomées, dominantes entre 0.05 et 0.2 mgP/l.

On peut noter que dans les conditions habituelles à Nort (flèche rouge : moyenne tous paramètres depuis 2004), la biomasse maximale de Cyanobactéries reste 2 à 3 fois plus faible que les maxima attendus pour les Chlorophycées et Diatomées, ce qui correspond bien aux observations de terrain.

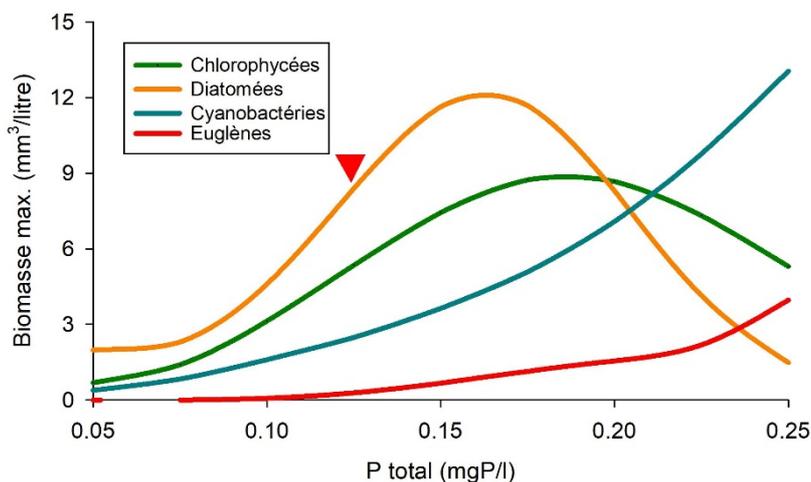


Fig. D21- Distribution calculée des biomasses maximales pour les principaux embranchements à Nort s/Erdre

Flèche rouge : P total moyen actuel

Dans les stations aval (fig. D22 page suivante), les Cyanobactéries présentent également des biomasses maximales systématiquement croissantes avec la charge en phosphore, dépassant celles des autres groupes au-delà de 0.15 - 0.17 mgP/l. Les biomasses de Chlorophycées sont maximales aux environs de 0.17 - 0.2 mgP/l, alors que les Diatomées, tout juste dominantes aux faibles teneurs en phosphore, ont un optimum plus resserré qu'en amont entre 0.15 et 0.17 mgP/l.

Enfin, à la différence des résultats de Nort, les biomasses des trois groupes majeurs sont très proches dans la partie basse du domaine trophique ($< 0.17 \text{ mgP/l}$), sans avantage marqué pour les Diatomées ou les Chlorophycées. Au-delà, donc pour des teneurs en P total supérieures à la moyenne de ces 2 stations (c.a.d. 0.19 mgP/l), les Cyanobactéries sont systématiquement dominantes avec des biomasses pouvant être au maximum 5 fois plus fortes que celles des Chlorophycées et 10 fois plus que celles des Diatomées.

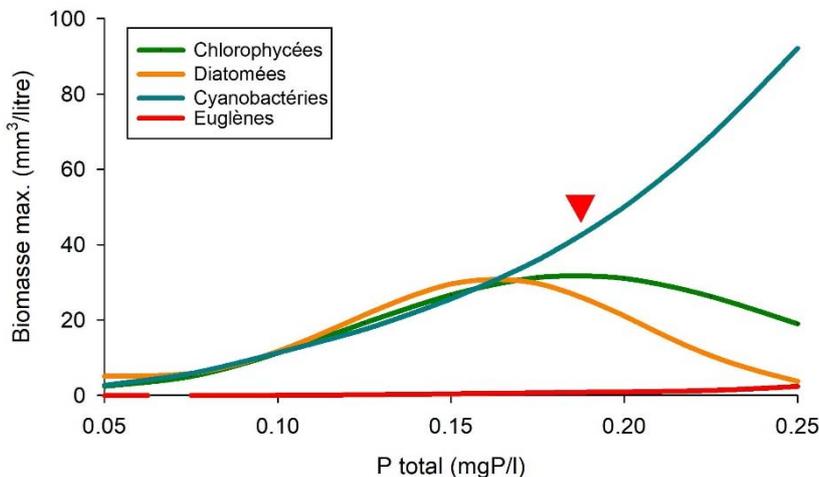


Fig. D22- Distribution calculée des biomasses maximales pour les principaux embranchements à Sucé s/Erdre et la Jonelière

Flèche rouge : P total moyen actuel

Parmi les éléments qui peuvent expliquer les différences amont-aval, on peut noter :

- la charge en phosphore, plus élevée en aval ($0.19 \pm 0.04 \text{ mgP/l}$ contre $0.12 \pm 0.04 \text{ mgP/l}$ en amont)
- la part d'azote réduit, elle aussi plus forte en aval (0.63 ± 0.3 contre 0.32 ± 0.4 en amont)
- le rapport N/P, indiquant un milieu moins limité par le phosphore en aval (32 ± 7 contre 53 ± 23 en amont)
- le taux de renouvellement de la masse d'eau, minimal en aval (1.9 ± 1 contre 49 ± 33 en amont)

Globalement la seule augmentation de la charge en phosphore (+ 50 % en aval) n'explique pas à elle seule l'augmentation de la biomasse des cyanobactéries. Celle-ci dépend également de la forme des nutriments et de la nature du milieu : une plus forte proportion d'ammoniaque indique un milieu plus réduit qu'en amont, donc comportant des formes plus facilement assimilables du fer et du soufre (oligo-éléments indispensables aux Cyanobactéries).

On peut y ajouter l'influence du renouvellement des eaux : maximal dans l'amont du bassin, il permet la dilution des nutriments et de la biomasse (effet mécanique s'opposant à l'accumulation de biomasses élevées) et traduit l'arrivée d'eaux plus oxydantes, moins chargées en éléments réduits favorables aux cyanobactéries.

Le renouvellement rapide en amont permet également de tempérer le réchauffement estival des eaux : l'augmentation du temps de séjour vers l'aval se traduit, à température de l'air égale, par un écart moyen de $+2^\circ\text{C}$ entre Nort et les stations aval.

Dans la suite de la discussion, nous évaluerons les possibilités d'évolution de ces 2 paramètres majeurs que sont le temps de séjour (donc le débit) et la température de l'eau (sous influence de la température de l'air et du temps de séjour), en fonction des formes et concentrations des nutriments.

42- Perspectives d'évolution pour les Cyanobactéries

• Impact sur la biomasse

En première approche, les simulations montrent des résultats différents selon que l'on ne prend en compte que les paramètres hydroclimatiques ou si on leur adjoint l'évolution prévisible des teneurs en nutriments.

Si on projette en effet la situation trophique actuelle sur les différents scénarii hydroclimatiques considérés, il n'apparaît pas de différence entre les biomasses simulées actuelles et à 30 ans, en amont comme en aval: les trajectoires de la biomasse maximale des Cyanobactéries ne varient pas, du scénario le plus frais/humide au plus chaud/sec, pour des écarts de +1°C, +15 kW/m² et + 20 mm par rapport aux tendances observées depuis 1972.

La situation est par contre toute autre quand on intègre les prévisions sur les teneurs en P total et les formes de N, avec des augmentations sensibles en amont et substantielles en aval.

A Nort s/Erdre (fig. D23), les biomasses maximales en contextes moyen, humide et très humide, comprises entre 1.5 et 2.2 mm³/l, atteindraient de 3 à 4.5 mm³/l. Dans les contextes chauds et secs, elles passeraient de 5-5.2 mm³/l à 10 mm³/l, soit un quasi-doublement.

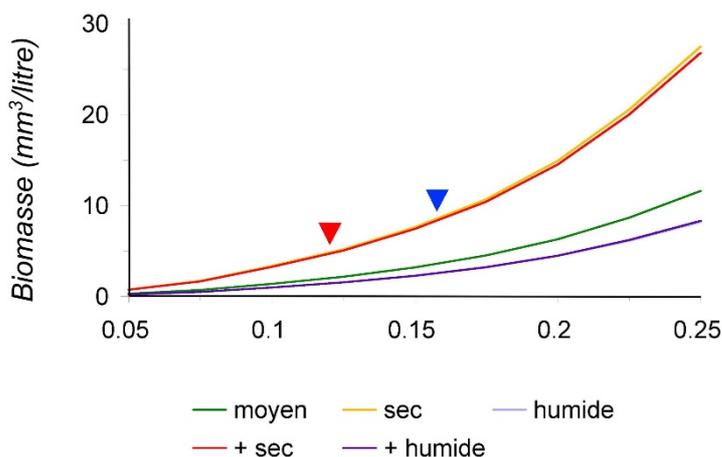


Fig. D23- Biomasse (poids sec) des Cyanobactéries en fonction des concentrations en P total à Nort s/Erdre pour les 5 scénarii testés

Dans les stations aval (fig. D24), les biomasses maximales en contextes moyen, humide et très humide, atteindraient de 53 à 89 mm³/l pour une projection de 0.25 mg/l de P total, contre 21 à 34 mm³/l dans le contexte actuel.

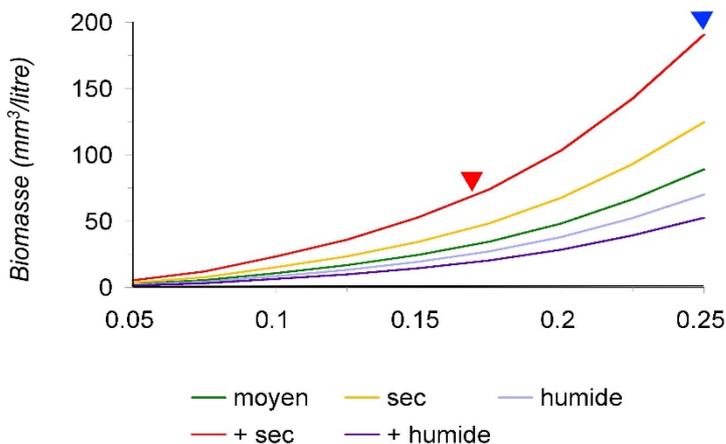


Fig. D24- Biomasse (poids sec) des Cyanobactéries en fonction des concentrations en P total dans les stations aval pour les 5 scénarii testés

Pour les scénarii sec et très sec, elles passeraient de 45 et 74 mm³/l à 125 et 190 mm³/l. Dans tous les scénarii, on aboutit à une augmentation par un facteur d'au moins 2.5.

• Impact sur la durée de présence des Cyanobactéries

La durée de présence des Cyanobactéries est directement proportionnelle à leur biomasse maximale; elle n'est donc pas plus affectée par les variations à 30 ans des paramètres météorologiques et reste directement proportionnelle aux concentrations en P total.

En amont comme en aval, ces durées de présence sont plus fortes en contexte chaud/sec: elles peuvent alors être 30 % plus longues que la moyenne en amont, et seulement 16 % plus longues en aval (ce qui suffit pour couvrir toute la durée de suivi de l'observatoire).

Rappelons que la durée dépend également du seuil retenu pour la biomasse. Dans la présente étude il a été fixé à 0.5 mm³/ml (seuil nécessaire pour observer des concentrations de MCs de 1 µg/l dans l'Ouest) mais pourra être modifié dans le cas d'une éventuelle intégration de la biomasse comme paramètre de suivi de la qualité sanitaire.

Dans l'Erdre, alors que les biomasses diminuent rapidement quand on réduit le phosphore de 0.25 à 0.15 mgP/l, la diminution de la durée de présence est tout d'abord plus lente, puis accélère pour des teneurs inférieures à 0.1 mgP/l.

Dans le cadre des différents scénarii hydroclimatiques, pour lesquels toutes les stations subissent une augmentation des nutriments, il est prévisible que les durées de présence des Cyanobactéries augmentent avec la charge trophique:

En amont (fig. D25), elles pourraient ainsi atteindre, en contexte moyen à très frais, de 9 à 11 semaines contre 7 à 9 actuellement, soit une augmentation de 30 à 37 %. En contextes sec et très sec, elles atteindraient près de 15 semaines, soit une augmentation de 20-21 %.

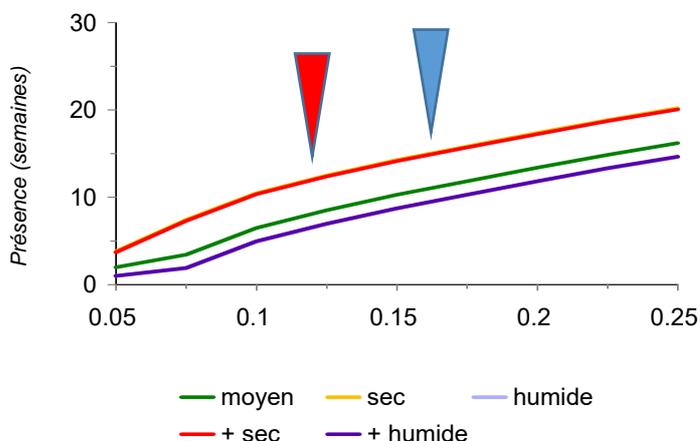


Fig. D25- Durée de présence des Cyanobactéries en fonction des concentrations en P total à Nort pour les 5 scénarii testés

En aval (fig. D26), elles passeraient de 18-21 semaines en contexte moyen/humide/très humide à 23-26 semaines (soit +20 à 23 %). En contextes sec et très sec, elles représenteraient de 27 à 30 semaines avec une augmentation de 18-19 %.

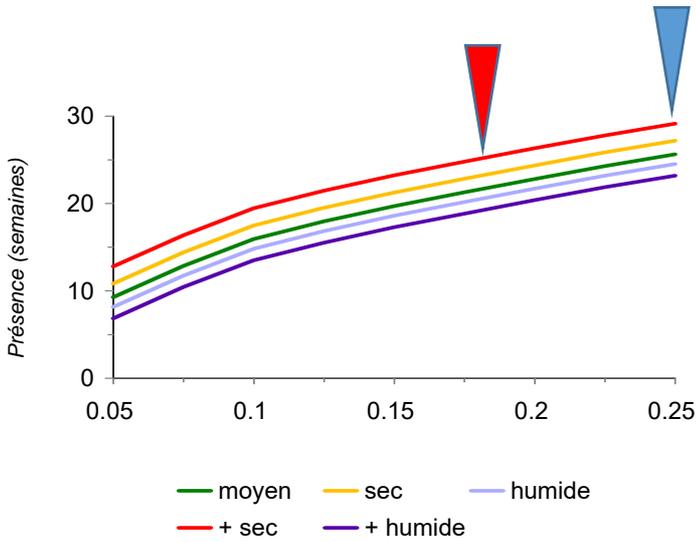


Fig. D26- Durée de présence des Cyanobactéries en fonction des concentrations en P total dans les stations aval pour les 5 scenarii testés

• Impact sur les microcystines (MCs)

Comme illustré dans la figure 3 du chapitre C (Toxines), la distribution des concentrations en microcystines augmente en parallèle à la biomasse des Cyanobactéries. Dans nos scenarii annuels, il est donc possible de relier les concentrations maximales attendues avec les biomasses maximales calculées en fonction des conditions hydroclimatiques et des teneurs en nutriments. Nous avons retenu comme seuil de concentrations maximales en MCs leur 90^{ème} percentile, calculé en fonction de la biomasse.

Pour les 5 scenarii retenus, il apparaît alors que:

- En amont (fig. D27): dans les contextes moyen et humides, les MCs atteindraient 2.6 à 3 µg/l, contre 2 à 2.5 µg/l dans le contexte actuel. En conditions sèches à très sèches, elles pourraient atteindre 3.5 à 4 µg/l contre 3 à 3.5 µg/l actuellement.

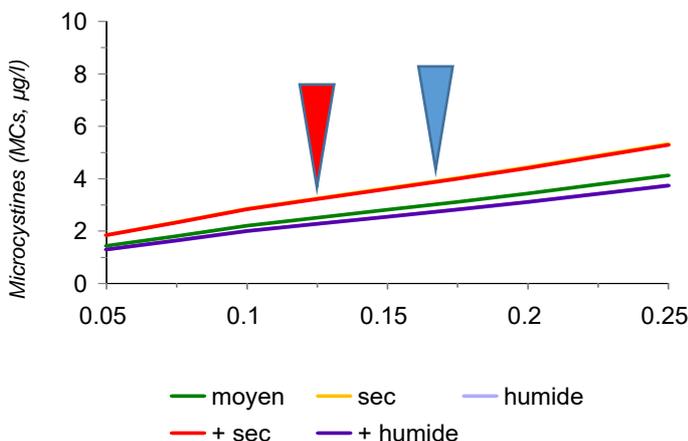


Fig. D27- Concentrations attendues en MCs (90^{ème} percentile) en fonction des concentrations en P total à Nort pour les 5 scenarii testés

- En aval (fig. D28): dans les scénarii moyen et frais, les MCs atteindraient 6 à 8 µg/l, contre 5 à 7 µg/l actuellement. Dans les scénarii sec et très sec, elles pourraient atteindre 8 à 10 µg/l contre 6-7 µg/l en conditions actuelles, soit une augmentation d'au moins 33 % pour une hypothèse basse de 0.25 mg/l de P total, et sans changement des espèces toxigènes observées dans l'Erdre.

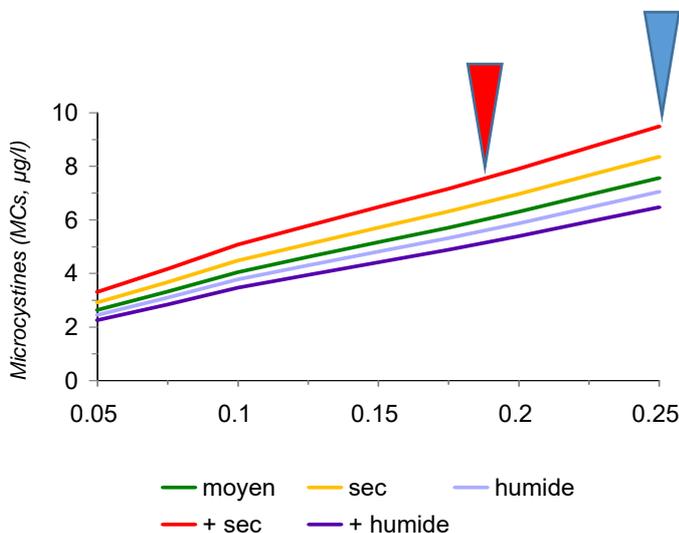


Fig. D28- Concentrations attendues en MCs (90^{ème} percentile) en fonction des concentrations en P total dans les stations aval pour les 5 scénarii testés

5- Bilan des simulations

• Comparaison entre embranchements

Par rapport aux autres constituants du phytoplancton, en termes de successions interannuelles il apparaît que les populations de Cyanobactéries de l'Erdre sont très compétitives pour les gammes de valeurs faibles des paramètres qui ont une action positive sur la biomasse.

La comparaison des pentes initiales dans les figures D1 à D5 montre en effet que les populations de cyanobactéries, toutes espèces confondues, sont les plus rapides à présenter une croissance de leur biomasse dès lors que le milieu commence à se réchauffer, à s'enrichir en phosphore et/ou en azote réduit, et que le renouvellement des eaux diminue. Appliqué à une échelle interannuelle, c'est avant tout par leur capacité à coloniser chaque année un peu plus rapidement un milieu qui devient graduellement favorable à l'ensemble des taxons qu'elles peuvent exclure leurs compétiteurs et atteindre leurs biomasses maximales. Ceci est à mettre en parallèle avec les illustrations de la biodiversité du phytoplancton de l'Erdre (chapitre B, tableau B2 et fig. B24 et B25), qui montre une chute rapide de la diversité des taxons non cyanobactériens bien avant que celles-ci atteignent des biomasses significatives.

Dans des conditions habituellement considérées comme idéales pour les Cyanobactéries, par exemple les années particulièrement chaudes, sèches et ensoleillées, elles apparaissent tout juste marginalement avantagées par rapport aux Chlorophycées (ex: températures supérieures des eaux fig. D1; charges maximales en phosphore fig. D4), voire dépassées par celles-ci (ex: charge en azote réduit fig. D5). Ce sont donc bien ces avantages vis-à-vis de la température et du phosphore qui leurs permettent de conserver la dominance qu'elles ont acquies pour des valeurs plus basses de ces paramètres.

Enfin, l'examen des pentes dans les fig. D1 à D5 montre aussi qu'elles sont plus sensibles que les autres groupes aux facteurs présentant un effet négatif sur la biomasse, tels que le renouvellement des eaux (fig D2) et le rapport N/P (fig. D3), pour lesquels Chlorophycées et Diatomées peuvent rapidement les supplanter (avec des biomasses maximales 10 à 100 fois supérieures) dès lors qu'on s'écarte des valeurs minimales.

En résumé, ce qui apparaît comme étant la dynamique de développement des Cyanobactéries dans l'Erdre est relativement différent de ce qu'on imagine habituellement : ce ne sont pas les valeurs extrêmes de certains paramètres qui les avantagent le plus ; au contraire sur le long terme leur capacité à dominer la flore est garantie par leur capacité à réagir chaque année plus rapidement que les autres algues aux conditions 'habituelles' du milieu. Leur développement débute avec une biomasse initiale qui peut être plus de 100 fois plus faible que celle des autres groupes, Chlorophycées et Diatomées notamment. Ceci se traduit par un délai important avant qu'elles n'atteignent un niveau significatif (ici déterminé à 1 mm³/litre) à partir duquel elles pourront commencer à exclure leurs compétiteurs, puis prendre la tête sur le reste de la flore.

En revanche, cette facilité à assoir leur dominance peut être remise en cause par une sensibilité également très forte à quelques paramètres limitants tels que le renouvellement des eaux et la distribution des formes de l'azote. En ce sens, alors que la capacité à potentiellement dominer la flore planctonique est facilement acquise, le maintien de cette dominance apparaît fragile et n'est garanti que par la très grande stabilité des débits dans l'aval de l'Erdre, et l'augmentation régulière de la disponibilité du phosphore et de la proportion de NH₄ par rapport aux NO₃.

• Evolution des cyanobactéries

Les résultats des simulations indiquent que les évolutions prévisibles des paramètres climatiques (température et ensoleillement) devraient avoir un impact marginal par rapport à l'effet activateur du phosphore, y compris dans les scénarii de plus forte température (qui est le paramètre majeur dans ce groupe de variables). Dans ce cas, une évolution future à la hausse des biomasses ne serait pas liée à l'augmentation de fond des températures et du rayonnement mais plutôt à une augmentation de la fréquence des épisodes chauds/secs.

Un autre levier d'augmentation de la présence des cyanobactéries pourrait être l'augmentation des températures hivernales, évalué à +3°C par siècle, donc similaire au taux de réchauffement estival dans l'Erdre. De nombreux travaux ont en effet montré que des températures plus chaudes en hiver se traduisent par une émergence plus précoce des Cyanobactéries en fin d'hiver, et une présence plus longue à des niveaux de biomasse significatifs pendant les suivis d'été, ce qui est d'ailleurs déjà observable dans le grand Ouest (voir par exemple Weyhenmeyer 2001, Wiedner et al. 2007, Kosten et al. 2012, Cirès et al. 2013, Pitois et al. 2014b, Deng et al. 2014...).

Une telle augmentation de fréquence ne peut pas être vérifiée sur les séries temporelles disponibles pour Nantes ou Nort, trop courtes pour cela (1972). Il est cependant possible d'examiner des séries plus longues (1947) recalculées pour Nantes à partir de stations proches; celles-ci sont disponibles sur le site de l'ECA&D (*European Climate Assessment & Dataset*) qui héberge les données rassemblées en Europe et mises à disposition du GIEC (Klein Tank et al., 2002).

Avec ces séries, il a été possible d'étendre l'analyse des écarts à la tendance en distinguant des conditions :

- 'Moyennes', comprises entre tendance +/- 0.5 écart-type
- Normalement chaudes ou sèches, soit tendance + 0.5 à 1 écart-type
- Exceptionnellement chaudes ou sèches, au-delà de + 1 écart-type

En séparant le jeu de données en deux parties centrées sur l'année 1982 (tab. D4), il apparaît alors nettement un quasi doublement de la fréquence des étés chauds (de 19 % avant 1982 à 36 % après) et exceptionnellement chauds (de 11 à 19 %), tout comme une augmentation de la fréquence des étés secs (de 31 à 42 %).

La fréquence des étés normalement chauds et secs n'évolue pas, mais la conjonction de conditions exceptionnellement chaudes et sèches est en légère augmentation, de 6 à 8 % des années. Enfin, vis-à-vis des conditions hivernales, les hivers normalement ou exceptionnellement chauds, secs, ou chauds et secs n'évoluent pas, voire ont légèrement diminué au fil du temps.

Au final, seules les fréquences des conditions estivales paraissent avoir glissé, au cours des dernières décennies, vers des domaines plus favorables aux cyanobactéries au cours du temps.

	Avant 82	Après 82
Etés chauds	19 %	36 %
dont except. chauds	11 %	19 %
Etés secs	31 %	42 %
dont except. secs	22 %	22 %
Etés chauds et secs	14 %	14 %
dont except. chauds et secs	6 %	8 %
Hivers chauds	33 %	31 %
dont except. chauds	19 %	17 %
Hivers secs	31 %	39 %
dont except. secs	14 %	14 %
Hivers chauds et secs	6 %	6 %
dont except. chauds et secs	3 %	0 %

Tab. 4- Fréquence des conditions normalement ou exceptionnellement chaudes et/ou sèches à Nantes depuis 1947. Données brutes ECA&D

Indépendamment de cette évolution, ce que montrent les simulations c'est que les paramètres trophiques sont les principaux déterminants de la biomasse maximale des Cyanobactéries, donc de leur durée de présence au-delà des seuils d'alerte sanitaire, et de la fréquence de détection et des concentrations en toxines. C'est donc bien le contrôle de ces sources qui permettra de réduire les proliférations et leur impact sanitaire dans l'Erdre : les sources de phosphore (objet de travaux séparés pour EDENN), mais également d'azote, notamment d'azote réduit qui peut être issu des effluents d'activité humaine, domestique ou agricole, ou de la minéralisation des vases de l'Erdre et des relargages depuis les sédiments. Il faut donc quantifier ces différentes sources pour hiérarchiser les plans d'actions destinés à les réduire.

Un dernier point de contrôle pourrait être le renouvellement des eaux. On a vu par exemple que celui-ci est en diminution lente malgré une augmentation régulière des pluies de printemps. Or un taux de renouvellement plus faible plus tôt en saison se traduit par une facilitation de la colonisation des eaux par les Cyanobactéries, ainsi que par une augmentation plus rapide du réchauffement saisonnier des eaux, de leur charge organique, donc des déficits d'oxygènes qui vont permettre la fourniture de nutriments (N et P) recyclés ou relargués, et d'éléments réduits (NH₄ mais aussi oligo-éléments indispensables aux Cyanobactéries tels que fer et soufre).

Ceci pose des questions qui mériteraient d'être explorées, par exemple pour savoir dans quelle mesure cette baisse du renouvellement est liée à une émergence plus précoce de la végétation terrestre (évapotranspiration plus importante), à des changements de la nature du couvert végétal (changement des types de cultures), à une diminution des surfaces de sols résilients (capables de restituer de l'eau pendant l'été)...

Bilan de l'étude

Historique

Les cyanobactéries sont des organismes scientifiquement connus depuis près de deux siècles. L'espèce principalement présente dans l'Erdre, *Planktothrix agardhii*, a été décrite pour la première fois en 1822, et les premières descriptions de conséquences sanitaires ont été rapportées en 1831. L'intérêt porté aux cyanobactéries depuis lors concerne essentiellement leur toxicité potentielle pour l'homme et les animaux, et reste l'objet actuellement de nombreux travaux.

Alors qu'on associe souvent les proliférations de cyanobactéries et la production de toxines à des conditions chaudes et sèches ou aux zones tropicales, l'analyse de la bibliographie montre clairement qu'on retrouve quasiment toutes les familles de toxines partout à la surface du globe, et notamment en Europe. Dans l'Ouest de la France, des études régionales ont montré que la majorité des plans d'eau étaient touchés (avec des fréquences et intensités variables), et que les épisodes de présence des cyanobactéries sont en progression constante depuis 2004 en raison de l'augmentation des températures et de l'ensoleillement pendant les mois conjugués à des teneurs élevées des eaux en nutriments. Dans les eaux de l'Erdre, suivies chaque année depuis 2003, les cyanobactéries représentent un élément constant de la flore planctonique. Si l'amont du bassin versant est encore relativement épargné, les secteurs aval de l'Erdre sont chaque année soumis à des proliférations s'étendant de fin juin à fin septembre, voire fin octobre, avec une large dominance d'une unique espèce potentiellement toxigène.

Les cyanobactéries peuvent produire principalement deux types de toxines : les hépatotoxines et les neurotoxines, ainsi que d'autres composés parmi lesquels des cytotoxines et des dermatotoxines. Parmi les hépatotoxines, les microcystines constituent le groupe le plus diversifié du point de vue de la structure des molécules, avec 279 formes différentes identifiées en 2019. Les autres familles de toxines régulièrement observées en France sont des neurotoxines (anatoxines, saxitoxines) et des hépato/cytotoxines (cylindrospermopsines).

Le mode d'action des toxines peut être aigu, c.a.d. direct et immédiat suite à l'exposition à une dose importante d'une ou plusieurs toxines, subaigu dans le cas de manifestations à plus long terme et chronique en cas d'expositions répétées.

Les premiers cas d'intoxications aiguës liées aux cyanobactéries, sous forme d'épidémies de gastroentérites, ont été rapportés en 1931 aux Etats-Unis. Le nombre de signalements a ensuite augmenté à partir des années 60, pour culminer dans les années 90 avec les épisodes tragiques qui ont entraîné la mort de plus de 130 personnes au Brésil en 1988 et 1996. Depuis lors, les cas d'intoxications humaines paraissent en régression, ce qui peut être lié à une meilleure connaissance des problématiques associées aux cyanobactéries et à la mise en place de suivis spécifiques.

Pour autant, de nombreux autres effets de l'exposition aux cyanobactéries et à leurs toxines associés à des manifestations moins sévères sont à l'étude depuis les années 2000, tels que les aspects allergènes, cytotoxiques ou perturbateurs endocriniens, qui semblent avérés mais délicats à évaluer en raison de la complexité de leurs modes d'action. Les effets d'une exposition chronique aux microcystines ont notamment été mis en évidence au travers de plusieurs études épidémiologiques, qui montrent qu'une exposition via l'alimentation (eau de boisson, nourriture...) s'accompagne d'une fréquence plus élevée du cancer du foie chez l'adulte mais surtout chez l'enfant.

Enfin, parmi les conséquences de l'exposition aux toxines de cyanobactéries, on doit noter les cas d'intoxication d'animaux domestiques intervenus ces dernières années, notamment dans le bassin de la Loire où de nombreux chiens sont morts après avoir bu de l'eau contenant des neurotoxines.

Phytoplancton et diversité

Parmi les nutriments majeurs, azote (N), carbone (C) et phosphore (P), celui qui est le moins disponible est qualifié d'élément limitant. Dans l'Erdre, ce rôle est joué par le phosphore. Ceci signifie que la concentration en biomasse maximale qu'on peut obtenir en présence de suffisamment d'azote et de carbone sera directement proportionnelle à la concentration en phosphore assimilable dans le milieu. Utiliser le biovolume comme estimateur direct de la biomasse et comme descripteur du phytoplancton permet donc de raccrocher directement les relevés de l'Observatoire à la disponibilité en phosphore.

En termes de biomasse, justement, toutes années confondues on peut nettement distinguer l'amont et l'aval de l'Erdre fluviale : en amont, Nort héberge une flore composée de 8 % de cyanobactéries et 92 % d'autres embranchements, alors qu'en aval Sucé et la Jonelière hébergent 39 % de cyanobactéries et 61 % d'autres taxons.

En termes de distribution temporelle, à Nort l'expansion des cyanobactéries débute fin juillet, pour culminer début septembre à 25-30 % de la biomasse. Dans les stations aval en revanche, Les cyanobactéries suivent un développement plus précoce et plus long qu'à Nort pour atteindre 55 à 65 % de la biomasse totale de début août à fin octobre.

En termes de composition du phytoplancton, les cyanobactéries ont un impact majeur sur la diversité de la microflore: au-delà de 1 mm³/l, soit 1 mg/l de poids frais de cyanobactéries, on peut observer une chute rapide de la diversité. Cette chute est maximale pour les Cryptophycées, Euglènes, Xanthophycées..., plus lente pour les Diatomées et Cyanobactéries, et un peu plus limitée pour les Chlorophycées.

Ce seuil de biomasse à partir duquel la diversité s'effondre est très bas: pour les cyanobactéries les plus courantes dans l'Erdre, il correspond à des densités de 10 à 15 000 cellules/ml et ne représente que quelques % des densités maximales observées chaque année dans le secteur aval. Comme la biomasse des cyanobactéries est directement proportionnelle à la disponibilité du phosphore, il est nécessaire d'identifier, de quantifier et de réduire les sources de phosphore alimentant l'Erdre pour préserver la diversité de la flore planctonique, réduire la fréquence et la durée des épisodes de prolifération et les occurrences des toxines.

Toxines

Dans l'Erdre, la présence des toxines augmente entre 10 000 et 100 000 cell/ml, où elles sont détectables dans près de 90 % des échantillons analysés. Si on exprime les cyanobactéries en biomasse, les taux de détection de toxines sont maxima entre 1 et 2 mm³/l soit 1 à 2 mg/l de poids frais. Les concentrations en microcystines sont proportionnelles à la biomasse, et le minimum pour atteindre le seuil actuel d'interdiction de baignade (13 µg/l de MCs totales) correspond à environ 75 000 cell/ml de *Planktothrix*, 50 000 cell/ml d'*Aphanizomenon*, ou encore 25 à 30 000 cell/ml de *Microcystis* ou d'*Anabaena*, ce qui est relativement faible et toujours inférieur au seuil d'alerte fixé à 100 000 cell/ml à partir duquel les analyses sont systématiques.

Des études conduites dans des retenues proches de l'Erdre, en Bretagne et Pays de Loire, ont par ailleurs montré que quand les cyanobactéries sont dominées par des *Planktothrix*, on peut observer une majorité de microcystines, dont des formes qui ne sont pas actuellement recherchées par le suivi sanitaire mais sont tout aussi toxiques, ainsi que des neurotoxines (anatoxines) dans plus de 40 % des cas.

Si on combine ces deux observations, présence de toxines à faible concentration de cyanobactéries et présence potentielle de neurotoxines, il apparaît important de réformer le suivi en place pour le compléter en recherchant un plus grand nombre de familles de toxines, et de le compléter avec des méthodes de terrain fournissant un résultat sous des délais plus courts que les analyses classiques.

L'utilisation de tests bandelettes, applicables aux toxines les plus courantes, pourrait ainsi permettre de gagner en réactivité pour les activités de loisirs nautiques. Ces tests exploitent des réactions enzymatiques fournissant une réponse à plus large spectre que la chimie analytique classique par la détection simultanée de toutes les formes d'une même famille de toxines. Il n'est quasiment jamais observé de faux négatifs, les délais d'analyse sont de 1 à 2 heures, et les contrôles peuvent être facilement multipliés dans le temps à faible coût. Tous ces points en font un outil particulièrement utile dans un cadre préventif, déjà utilisé par EDENN, et qu'il serait intéressant de généraliser auprès des usagers les plus exposés (bases nautiques par exemple).

Evolution probable de l'Erdre navigable

Les données de l'Observatoire ont permis de construire un modèle de la biomasse des cyanobactéries intégrant météo, hydrologie et nutriments. Celui-ci permet de reproduire assez fidèlement les variations interannuelles pour illustrer les possibilités d'évolution à moyen terme de l'Erdre en relation avec les modifications de températures et de temps de séjour des eaux, ainsi que les projections sur les formes d'azote et de phosphore qu'on peut déduire des observations existantes.

Les paramètres climatiques de la région de Nantes montrent en effet des évolutions sensibles depuis les années 70, avec par exemple une augmentation moyenne des températures de +3°C par siècle à la fois pour les périodes estivales et hivernales; une augmentation du rayonnement global de 10 à 20 % par siècle pour les mois d'hiver et de 7 à 12 % pour les mois d'été, et une augmentation de 190 mm des précipitations sur l'année dont 30 % entre mai et octobre. Dans le même temps le débit tend à diminuer en fin d'hiver et en période estivale, alors que la charge des eaux en phosphore suit une augmentation de +2 à +3 % par an, ce qui correspond à un quasi doublement attendu dans les 25-30 ans à venir.

Dans les stations amont et aval de l'Erdre, le modèle confirme que le phosphore et la température sont les principaux paramètres activateurs des proliférations de cyanobactéries, alors que le renouvellement des eaux joue un rôle de modérateur, à la fois sur les températures de l'eau et sur la biomasse des cyanobactéries.

Les projections à 30 ans montrent une évolution significative de la situation actuelle, notamment dans les scénarii les plus chauds et secs: si les conditions du milieu poursuivent les tendances actuelles, la biomasse des cyanobactéries pourrait être multipliée par 2 (en amont) à 2.5 (en aval). Leur durée de présence au-dessus des seuils permettant la détection de toxines augmenterait de 20 à 30 %, et comme les concentrations en microcystines sont proportionnelles à la biomasse de cyanobactéries, les teneurs maximales en toxines pourraient atteindre plus de 10 µg/l dans les stations aval (contre 6 à 8 µg/l actuellement), et dépasser fréquemment la limite actuelle d'interdiction de baignade.

Au final, ce modèle montre que la dynamique des proliférations de Cyanobactéries dépend avant tout de leur capacité à exploiter pleinement les conditions 'normales' du milieu plus que de profiter de conditions extrêmes en termes de température ou de charge en phosphore, malgré ce qu'on imagine habituellement. En ce sens, l'augmentation prévisible de la fréquence et de l'intensité des épisodes de prolifération et de production de toxines est davantage attribuable à l'augmentation graduelle et continue de la charge en nutriments dans les eaux de l'Erdre qu'à l'évolution climatique; celle-ci agit comme agent facilitateur, mais pas comme cause principale.

C'est donc le contrôle des sources de nutriments, donc de phosphore et d'azote (notamment d'azote réduit), qui permettra de réduire les proliférations et leur impact sanitaire dans l'Erdre. L'examen des séries d'analyses des années 1990 montre que les concentrations en phosphore total de l'Erdre ont connu une diminution lente jusqu'au début des années 2000, mais sont désormais en augmentation depuis 2007-2008. Au rythme déduit des données de l'Observatoire, ces concentrations devraient avoir retrouvé d'ici 30 ans des niveaux équivalents à ce qu'ils étaient initialement, soit 0.2-0.3 mgP/l, annulant ainsi les progrès réalisés à la fin du siècle dernier.

Toutes les sources ne sont pas simples à caractériser et à contrôler, comme par exemple celles relevant de l'érosion du bassin-versant et de la minéralisation des sédiments. Il existe en revanche un premier levier d'action: l'assainissement, dont les études réalisées pour EDENN (Interfaces et Gradients, 2019) montrent qu'il peut être responsable de 65 à 80 % des apports de phosphore et d'azote réduit pendant les années sèches qui sont les plus critiques pour les Cyanobactéries.

Ceci rappelé, il peut être intéressant d'inverser ces questions pour évaluer les concentrations en phosphore à ne pas dépasser dans l'Erdre dans les conditions les plus dégradées, c.a.d. vis-à-vis des biomasses maximales de Cyanobactéries, ce qui constitue la première étape dans la définition d'objectifs de qualité à long terme.

- 1- Dans le contexte actuel, il est prévisible que les occurrences d'épisodes chauds et secs vont continuer à augmenter, alors que les mesures disponibles permettent de prévoir un doublement des concentrations en phosphore dans les 25-30 ans à venir. Maintenir la situation en l'état demande d'empêcher cette augmentation du phosphore, donc limiter les moyennes annuelles à un maximum de 0.15 mgP/l dans le secteur amont et 0.18 mgP/l dans le secteur aval.
- 2- Vis-à-vis des toxines, la biomasse nécessaire pour observer des concentrations en MCs équivalentes au seuil actuel d'interdiction de baignade (13 µg/l) correspond à 2 mm³/l dans tout l'Ouest et l'Erdre. Ne jamais dépasser ce niveau de biomasse nécessite de maintenir les concentrations en phosphore à moins de 0.125 mgP/l en amont et de 0.05 mgP/l en aval.
- 3- Le nouveau seuil proposé par l'ANSES (2020) pour déclencher les recherches de toxines, 1 mm³/l, correspond dans l'Ouest et l'Erdre à des concentrations en MCs de 3 µg/l, soit 10 fois le nouveau seuil proposé pour l'interdiction de la baignade. Cette biomasse correspond également au point d'inflexion de la biodiversité des populations de phytoplancton, et représente donc un double enjeu sanitaire et systémique (maintien de chaînes alimentaires diversifiées).

Indépendamment d'une redéfinition pour correspondre aux observations locales, ne pas dépasser ce seuil implique que le phosphore total doit rester inférieur à 0.05 mgP/l en amont, et a fortiori très inférieur à 0.02 mgP/l en aval (le modèle ne permet pas d'estimer une valeur précise).

- 4- Le nouveau seuil proposé par l'ANSES pour interdire la baignade, 0.3 µg/l, correspond à des biomasses comprises entre 0.02 et 0.2 mm³/l soit de 300 à 4 500 cell/ml de *Planktothrix*. Ce niveau de biomasse est trop faible pour être intégré dans les simulations présentées ici ; il suppose que le phosphore devrait être indétectable en permanence dans les eaux de l'Erdre.

Ces premières estimations montrent qu'il est possible de poser des objectifs progressifs en fonction des enjeux ; pour autant les concentrations en phosphore qu'il faudrait atteindre dans l'Erdre peuvent paraître extrêmement faibles. Une estimation basée sur des fréquences de dépassement, et non sur des biomasses maximales absolues, pourrait permettre de fixer des objectifs moins complexes à remplir. Leur mise en place nécessitera un suivi d'effet dans le temps puisque chaque action mise en œuvre sur le bassin versant demandera plusieurs années pour que ses effets soient durablement visibles.

Annexes

Annexe 1- Bibliographie

Annadotter H., Cronberg G., Lawton L., Hansson H.-B., Göthe U., Skulberg O. (2001). An extensive outbreak of gastroenteritis associated with the toxic cyanobacterium *Planktothrix agardhii* (Oscillatoriales, Cyanophyceae) in Scania, South Sweden. In : Cyanotoxins. Occurrence, causes, consequences. Chorus I. (Ed). Springer-Verlag Berlin. pp 200-221.

ANSES (2020). Actualisation de l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines aux activités de pêche professionnelle et de loisir dans les eaux destinées à l'alimentation, les eaux de loisirs et les eaux destinées aux activités de pêche professionnelle et de loisir. 495 p.

Annadotter, H., Cronberg, G., Nystrand, R., Rylander, R. (2005). Endotoxins from Cyanobacteria and Gram-negative Bacteria as the Cause of an Acute Influenza-like Reaction after Inhalation of Aerosols. *EcoHealth* 2(3): 209-221

Antal O., Kariszl-Gácsi M., Farkas A., Kovács A., Ács A., Törö N., Kiss G., Saker M.L., Györi J., Bánfalvi G., Vehovszky A. (2011). Screening the toxic potential of *Cylindrospermopsis raciborskii* strains isolated from Lake Balaton, Hungary. *Toxicon* 57: 831-840.

Aráoz, R., Molgó, J., Tandeau de Marsac, N. (2010). Neurotoxic cyanobacterial toxins. *Toxicon*, 56(5), 813–28.

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

Backer L. C., Carmichael W., Kirkpatrick B., Williams C., Irvin M., Zhou Y., Cheng Y. S. (2008). Recreational exposure to low concentrations of microcystins during an algal bloom in a small lake. *Marine Drugs*, 6, 389–406.

Backer L. C., McNeel S. V., Barber T., Kirkpatrick B., Williams C., Irvin M., Cheng Y. (2010). Recreational exposure to microcystins during algal blooms in two California lakes. *Toxicon*, 55(5), 909–921.

Bácsi I., Vasas G., Surányi G., M-Hamvas M., Máthé C., Tóth E., Grigorszky I., Gáspár A., Tóth S., Borbely G. (2006). Alteration of cylindrospermopsin production in sulfate- or phosphate- starved cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum*. *FEMS Microbiol. Lett.* 259: 303-310

Barreiro A., Vasconcelos V. (2014). Interactions between allelopathic properties and growth kinetics in four freshwater phytoplankton species studied by model simulations. *Aquatic Ecology* 48(2): 191-205.

Bernard, C. (2014). Les cyanobactéries et leurs toxines. *Revue Francophone des Laboratoires* 460: 53-68.

Bouaicha N., Miles C. O., Beach D. G., Labidi Z., Djabri A., Benayache N. Y., Nguyen-Quang T. (2019). Structural Diversity, Characterization and Toxicology of Microcystins. *Toxins* 11(12), DOI 10.3390/toxins11120714

Briand E., Bormans M., Gugger M., Dorrestein P. C., Gerwick W.H. (2016). Changes in secondary metabolic profiles of *Microcystis aeruginosa* strains in response to intraspecific interactions. *Environmental Microbiology*, 18(2), 384-400 . DOI: 10.1111/1462-2920.12904

Briand E., Reubrecht S., Mondeguer F., Sibat M., Hess P., Amzil Z., Bormans M. (2018). Chemically mediated interactions between *Microcystis* and *Planktothrix*: impact on their growth, morphology and metabolic profiles. *Environ Microbiol.* 21(5): 1552-1566. DOI 10.1111/1462-2920.14490

Carmichael W.W. (1994). The toxins of cyanobacteria. *Scientific American*, January: 2-9.

Carneiro R.L., Venâncio Dos Santos M.E., Furlanetto Pacheco A.B., Feliciano De Olivera E, Azevedo S.M., (2009). Effects of light intensity and light quality on growth and circadian rhythm of saxitoxins production in *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria). *Journal of Plankton Research*, 31(5), 481-488

- Carson, J.L., Brown, R.M. (1976). The Correlation of Soil Algae, Airborne Algae, and Fern Spores with Meteorological Conditions on the Island of Hawaii. *Pacific Science* 30(2): 197-205.
- Cha Y., Cho K. H., Lee H., Kang T., Kim J. H. (2017). The relative importance of water temperature and residence time in predicting cyanobacteria abundance in regulated rivers. *Water Res* 124: 11-19.
- Chen J., Xie P., Li L., Xu J. (2009). First identification of the hepatotoxic microcystins in the serum of a chronically exposed human population together with indication of hepatocellular damage. *Toxicological Sciences*, 108(1), 81–9.
- Cheng Y.S., Zhou Y., Irvin C.M., Kirkpatrick B., Backer L.C. (2007). Characterization of aerosols containing microcystin. *Marine Drugs*, 5(4), 136–50
- Chorus I., Bartram J. (1999). Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. Organisation Mondiale de la Santé (OMS), WHO Series in Environmental Management; Routledge: London, UK, 320 p.
- Christensen V.G., Khan E. (2020). Freshwater neurotoxins and concerns for human, animal, and ecosystem health: A review of anatoxin-a and saxitoxin. *Science of the Total Environment* 736: 139515
- Cirés S., Wörmer L., Agha R., Quesada A. (2013). Overwintering populations of *Anabaena*, *Aphanizomenon* and *Microcystis* as potential inocula for summer blooms. *Journal of Plankton Research* 35(6): 1254-1266.
- Cao Q., Steinman A.D., Wan X., Xie L. (2018). Bioaccumulation of microcystin congeners in soil-plant system and human health risk assessment: A field study from Lake Taihu region of China. *Environ. Pollut.* 240: 44-50.
- Cox P.A., Banack S.A., Murch S.J. (2003). Biomagnification of cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease among the Chamorro people of Guam. *PNAS* 100 (23): 13380-13383; DOI: 10.1073/pnas.2235808100.
- Davis T.W., Berry D.L., Boyer G.L., Gobler C.J. (2009). The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful Algae* 8: 715-725
- Deng J., Qin B., Paerl H. W., Zhang Y., Ma J., Chen Y. (2014). Earlier and warmer springs increase cyanobacterial (*Microcystis* spp.) blooms in subtropical Lake Taihu, China. *Freshwater Biology* 59(5): 1076-1085.
- Dillenberg H.P., Dehnel M.K. (1960). Toxic waterbloom in Saskatchewan. *Can. Med. Assoc. J.* 83: 1151-1154.
- Dittmann E., Fewer D. P., Neilan B. A. (2013). Cyanobacterial toxins: biosynthetic routes and evolutionary roots. *FEMS Microbiol Rev* 37(1): 23-43.
- Dominguez-Perez D., Rodriguez A. A., Osorio H., Azevedo J., Castaneda O., Vasconcelos V., Antunes A. (2017). Microcystin-LR Detected in a Low Molecular Weight Fraction from a Crude Extract of *Zoanthus sociatus*. *Toxins* 9(3). DOI 10.3390/toxins9030089.
- Du X., Liu H., Yuan L., Wang Y., Ma Y., Wang R., Chen X., Losiewicz M.D., Guo H., Zhang H. (2019). The Diversity of Cyanobacterial Toxins on Structural Characterization, Distribution and Identification: A Systematic Review. *Toxins* 11(9). DOI 10.3390/toxins11090530
- Elakovich S.D., Wooten J.W. (1989). Allelopathic potential of sixteen aquatic and wetland plants" *J. Aquat. Plant Manage.* 27: 78-84.
- Erhard D., Gross E.M. (2006). Allelopathic activity of *Elodea canadensis* and *Elodea nuttallii* against epiphytes and phytoplankton. *Aquatic Botany* 85(3): 203-211.
- Falconer I.R. (1991). Tumor promotion and liver injury caused by oral consumption of cyanobacteria. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal* 6: 177-184
- Falconer I.R. (2005). Is there a human health hazard from microcystins in the drinking water supply? *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 33(1): 64-71.
- Falconer I.R., Humpage A.R. (2006). Cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water supplies: cylindrospermopsins. *Environmental Toxicology* 21, 299-304

- Fastner J., Heinze R., Humpage A.R., Mischke U., Eaglesham G.K., Chorus I. (2003). *Cylindrospermopsis* occurrence in two German lakes and preliminary assessment of toxicity and toxin production of *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) isolates, *Toxicon* 42: 313-321
- Fitzgerald G. P. (1969). Some factors in the competition or antagonism among bacteria, algae and aquatic weeds. *Journal of Phycology* 5: 351-359.
- Francis G. (1878). Poisonous australian lake. *Nature* 18:11.
- Froschio S.M., Humpage A.R., Wickramasinghe W., Shaw G., Falconer I.R. (2008) Interaction of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin with the eukaryotic protein synthesis system. *Toxicon* 51: 191-198.
- Gácsi M., Antal O., Vasas G., Máthé C., Borbély G., Saker M.L., Györi J., Farkas A., Vehovszky A., Bánfalvi G. (2009). Comparative study of cyanotoxins affecting cytoskeletal and chromatin in CHO-K1 cells. *Toxicology in vitro* 23: 710-718
- Garcia C., Bravo M.C., Lagos M., Lagos N. (2004). Paralytic shellfish poisoning: post-mortem analysis of tissue and body fluid samples from human victims in the Patagonia. *Toxicon* 43: 149-458.
- Giannuzzi, L., Sedan, D., Echenique, R., & Andrinolo, D. (2011). An acute case of intoxication with cyanobacteria and cyanotoxins in recreational water in Salto Grande Dam, Argentina. *Marine Drugs*, 9(11), 2164–75.
- Gomont M. (1892). Monographie des Oscillariées (Nostocacées Homocystées). *Annales des Sciences Naturelles, série Botanique, Série 7*, 264 p.
- Gopal B., Goel U. (1993). Competition and Allelopathy in Aquatic Plant Communities. *The Botanical Review* 59(3): 155-210.
- Graham J., Loftin K.A., Meyer M. T., Ziegler A. C. (2010). Cyanotoxin mixtures and taste-and-odor compounds in cyanobacterial blooms from the Midwestern United States. *Environ. Sci. Technol.* 44(19): 7361-7368.
- Granéli E., Hansen P.J. (2006) Allelopathy in Harmful Algae: A Mechanism to Compete for Resources ? In: Granéli E., Turner J.T. (eds) *Ecology of Harmful Algae. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*, vol 189. Springer, Berlin, Heidelberg
- Grosse Y., Baan R., Straif K., Secretan B., El Ghissassi F., Coglianò, V. (2006). Carcinogenicity of nitrate, nitrite, and cyanobacterial peptide toxins. *The Lancet Oncology* 7(8): 628–9
- Havens, K., Paerl, H., Philips, E., Zhu, M., Beaver, J., Srifa, A. (2016). Extreme Weather Events and Climate Variability Provide a Lens to How Shallow Lakes May Respond to Climate Change. *Water* 8(6): 229. doi:10.3390/w8060229
- Hawkins P. R., Runnegar M., Jackson A., Falconer I. R. (1985). Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* isolated from a domestic water supply reservoir. *Appl. Environ. Microbiol.* 50(5): 1292-1295.
- He X., Stanford B.D., Adams C., Rosenfeldt E.J., Wert E.C. (2017). Varied influence of microcystin structural difference on ELISA cross-reactivity and chlorination efficiency of congener mixtures. *Water Res.* 126: 515-523.
- Hilt S., Ghobrial M., Gross E. (2006). In Situ allelopathic potential of *Myriophyllum verticillatum* (Haloragaceae) against selected phytoplankton species. *Journal of Phycology* 42(6): 1189-1198.
- Ho L., Tanga T., Hoefel D., Vigneswaran B. (2012). Determination of rate constants and half-lives for the simultaneous biodegradation of several cyanobacterial metabolites in Australian source waters. *Water Research* 46: 5735-5746
- Huang J., Xu Q., Xi B., Wang X., Jia K., Huo S., Su J., Zhang T., Li C. (2014). Effects of lake-basin morphological and hydrological characteristics on the eutrophication of shallow lakes in eastern China. *Journal of Great Lakes Research* 40(3): 666-674
- Interfaces et Gradients (2019) Le bassin de l'Erdre : Etude-diagnostic de l'eutrophisation et plan d'actions. 166 p.
- Jang M.-H., Ha K., Joo G.-J, Takamura N. (2003). Toxin production of cyanobacteria increased by exposure to zooplankton. *Freshwater Biol.* 48: 1540-1550.
- Jochimsen E.M., Carmichael W.W., An J., Cardo D.M., Cookson S.T., Holmes C.E.M., Antunes M.B.C., Filho D.A.M., Lyra T.M., Barreto V.S.T., Azevedo S.M.F.O., Jarvis W.R. (1988). Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis centre in Brazil. *The New England Journal of Medicine* 338(13): 873-878.

- Jones G.J., Orr P.T. (1994). Release and degradation of microcystin following algicide treatment of a *Microcystis aeruginosa* bloom in a recreational lake, as determined by HPLC and protein phosphatase inhibition assay. *Wat. Res.* 28(4):871-876.
- Jürgens G.H.B. (1822). *Algae aquatica*. Decas 13(6). Hanover: Mettcker, Jever & Hahn.
- Kaebernick M., Neilan B.A., Börner T., Dittmann E. (2000). Light and the Transcriptional Response of the Microcystin Biosynthesis Gene Cluster. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:3387-3392.
- Kirkpatrick B., Pierce R., Cheng Y.S., Henry M.S., Blum P., Osborn S., Baden D. (2010). Inland transport of aerosolized Florida red tide toxins. *Harmful Algae* 9: 186–189.
- Kirkpatrick B., Fleming L.E., Bean J.A., Nierenberg K., Backer L.C., Cheng Y.S., Baden D.G. (2011). Aerosolized red tide toxins (brevetoxins) and asthma: Continued health effects after 1h beach exposure. *Harmful Algae*, 10(2): 138–143.
- Klein Tank, A.M.G. and Coauthors, 2002. Daily dataset of 20th-century surface air temperature and precipitation series for the European Climate Assessment. *Int. J. of Climatol.*, 22, 1441-1453.
- Kosten S., Huszar V.L., Becares E., Costa L.S., Donk E., Hansson L.A., Scheffer M. (2012). Warmer climates boost cyanobacterial dominance in shallow lakes. *Glob. Change Biol.* 18(1): 118-126.
- Lang-Yona N., Lehahn Y., Herut B., Burshtein N., Rudich Y. (2014). Marine aerosol as a possible source for endotoxins in coastal areas. *Science of the Total Environment*, 499, 311–318.
- Lawrence J.F., Niedzwiedek B., Menard C., Lau B.P., Lewis D., Kuper-Goodman T., Holmes C. (2001). Comparison of liquid chromatography/mass spectrometry, ELISA, and phosphatase assay for the determination of microcystins in blue-green algae products. *Journal of AOAC International*, 84(4), 1035–44.
- Lee S., Jiang X., Manubolu M., Riedl K., Ludsin S.A., Martin J.F., Lee J. (2017). Fresh produce and their soils accumulate cyanotoxins from irrigation water: Implications for public health and food security. *Food Res. Int.* 102: 234-245. DOI 10.1016/j.foodres.2017.09.079
- Levizou E., Papadimitriou T., Papavasileiou E., Papadimitriou N., Kormas K. (2020). Root vegetables bioaccumulate microcystins-LR in a developmental stage-dependent manner under realistic exposure scenario: The case of carrot and radish. *Agricultural Water Management* 240. DOI 10.1016/j.agwat.2020.106274
- Li Y., Chen J., Zhao Q., Pu C., Qiu Z., Zhang R., Shu W. (2011). A Cross-Sectional Investigation of Chronic Exposure to Microcystin in Relationship to Childhood Liver Damage in the Three Gorges Reservoir. *Environmental Health Perspectives*, 119(10): 1483–1488.
- Lilleheil G., Andersen R.A., Skulberg O. M., Alexander J. (1997). Effects of a homoanatoxin-a containing extract from *O. formosa* (Cyanophyceae/cyanobacteria) on neuromuscular transmission. *Toxicon* 35(8): 1275–89.
- Lüring M., van Oosterhout F., Faassen E. (2017). Eutrophication and Warming Boost Cyanobacterial Biomass and Microcystins. *Toxins* 9(2). DOI 10.3390/toxins9020064.
- Machado J., Azevedo J., Freitas M., Pinto E., Almeida A., Vasconcelos V., Campos A. (2017). Analysis of the use of microcystin-contaminated water in the growth and nutritional quality of the root-vegetable, *Daucus carota*. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 24(1): 752-764.
- Maciel Mattos de Oliveira M.M.M., Brugnara D.F., do Nascimento J.A., Piccoli R.H. (2012). Control of planktonic and sessile bacterial cells by essential oils. *Food and Bioproducts Processing* 90(4): 809-818.
- Maki T., Hara K, Kobayashi F, Kurosaki Y, Kakikawa M, Matsuki A, Chen B, Hasegawa H, Iwasaka Y. (2015). Vertical distribution of airborne bacterial communities in an Asian-dust downwind area, Noto Peninsula. *Atmospheric Environment* 119: 282-293
- Mantzouki E., et al. (2018). Temperature Effects Explain Continental Scale Distribution of Cyanobacterial Toxins. *Toxins* 10(4): 156. DOI 10.3390/toxins10040156.
- Mazur-Marzec H. (2006). Characterization of phycotoxins produced by cyanobacteria. *Oceanological and Hydrobiological Studies* 35(1): 85-109.

- Mérel S., Walker D., Chicana R., Snyder S., Baurès E., Thomas O. (2013). State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environment International* 59: 303–327
- Mitrovic S. M., Hardwick L., Dorani F. (2011). Use of flow management to mitigate cyanobacterial blooms in the Lower Darling River, Australia. *Journal of Plankton Research* 33: 229-241
- Moss B. (2011). Allied attack: climate change and eutrophication. *Inland Waters* 1(2): 101-105.
- Nakai S., Yamada S., Hosomi M. (2005). Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum*. *Hydrobiologia* 543(1): 71-78.
- Neilan B.A., Pearson L.A., Moffitt M.C., Mihali K.T., Kaebernick M., Kellmann R., Pomati F. (2008). The genetics and genomics of cyanobacterial toxicity. In: Hudnell H.K. (eds) *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 619. Springer, New York, NY
- Nishiwaki-Matsushima R., Ohta T., Nishiwaki S., Suganuma M., Kohyama K., Ishikawa T., Carmichael W.W., Fujiki H. (1992). Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 118: 420-424.
- Nováková K.; Bláha L.; Babica P. (2012) Tumor promoting effects of cyanobacterial extracts are potentiated by anthropogenic contaminants - Evidence from in vitro study. *Chemosphere* 89: 30-37.
- O'Neil J. M., Davis T.W., Burford M.A., Gobler C.J. (2012). The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae* 14: 313-334
- Oberhaus L., Briand J.-F., Humbert J.-F. (2008). Allelopathic growth inhibition by the toxic, bloom-forming cyanobacterium *Planktothrix rubescens*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 66: 243-249.
- Olivier D. (2018). Cyanobactéries: Recensement et analyse des suivis et des actions conduites dans les plans d'eau en Bretagne et mise en perspective pour l'action. Rapport de Master 2 GHBV, CRESEB-Université Rennes 1, 69 p.
- Paerl H.W., Huisman J. (2008). Blooms Like It Hot. *Science* 320: 57-58.
- Paerl H.W., Otten T.G. (2013). Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. *Microbial Ecol.* 65(4): 1-16
- Park H., Namikoshi M., Brittain S.M., Carmichael W.W., Murphy T. (2001). [d-Leu1] microcystin-LR, a new microcystin isolated from waterbloom in a Canadian prairie lake. *Toxicon* 39(6): 855-862.
- Pearson L. A., Mihali T., Moffitt M., Kellmann R., Neilan B. (2010). On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin. *Marine Drugs* 8(5): 1650–1680.
- Pedro O., Rundberget T., Lie E., Correia D., Skaare J.U., Berdal K., Neves L., Sandvik M. (2012). Occurrence of microcystins in freshwater bodies in Southern Mozambique. *Journal of Research in Environmental Science and Toxicology* 1(4): 58-65.
- Pelmont J. (1993) Bactéries et Environnement – Adaptations physiologiques. P.U. de Grenoble, collection Grenoble Sciences – Rencontres scientifiques. 900 p.
- Pereira A.L., Azevedo J., Vasconcelos V. (2017). Assessment of uptake and phytotoxicity of cyanobacterial extracts containing microcystins or cylindrospermopsin on parsley (*Petroselinum crispum* L.) and coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 24(2): 1999-2009.
- Pflugmacher S. (2002). Possible allelopathic effects of cyanotoxins, with reference to microcystin-LR, in aquatic ecosystems. *Environ. Toxicol.* 17: 407-413
- Pilotto L.S., Douglas R.M., Burch M.D., Cameron S., Beers M., Rouch G.J., Robinson P., Kirk M., Cowie C.T., Hardiman S., Moore C., Attewell R.G. (1997). Health effects exposure to cyanobacteria (blue-green algae) during recreational water-related activities. *Australian and New Zealand Journal of Public Health* 21: 562-566.
- Pitois F., Thoraval I., Baurès E., Thomas O. (2014a). Geographical Patterns in Cyanobacteria Distribution: Climate Influence at Regional Scale. *Toxins* 6(2): 509–522.

Pitois F., Thomas O., Thoraval I., Baurès E., (2014b) Learning from 8 years of regional cyanobacteria observation in Brittany in view of sanitary survey improvement, *Environment International* 62: 113–118.

Pitois F., Thoraval I., Vezie C., Thomas O., Baurès E. (2016) Improving Microcystin monitoring relevance: a regional case-study (Brittany, Western France, Europe). *International Journal of Hygien and Environmental Health* 219: 288-293.

Pitois F., Fastner J., Pagotto C., Dechesne M. (2018). Multi-Toxin Occurrences in Ten French Water Resource Reservoirs. *Toxins* 10(7). DOI 10.3390/toxins10070283

Preußel K.; Wessel G.; Fastner J.; Chorus I. (2009) Response of cylindrospermopsin production and release in *Aphanizomenon flos-aquae* (cyanobacteria) to varying light and temperature conditions. *Harmful Algae* 8(5): 645-650.

Xian Q., Chen H., Zou H., Yin D. (2006). Allelopathic activity of volatile substance from submerged macrophytes on *Microcystis aeruginosa*. *Acta Ecologica Sinica* 26: 3549-3554.

Rantala A., Fewer D.P., Hisbergues M., Rouhiainen L., Vaitoomaa J., Börner T., Sivonen K. (2004) Phylogenetic evidence for the early evolution of microcystin synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 568-573.

Rapala J., Sivonen K., Luukkainen R., Niemelä S. (1993). Anatoxin-a concentration in *Anabaena* and *Aphanizomenon* under different environmental conditions and comparison of growth by toxic and non-toxic *Anabaena* strains - a laboratory study. *Journal of Applied Phycology* 5: 581-591.

Rapala J., Lahti K., Räsänen L., Esala A.L., Niemelä S., Sivonen K. (2002). Endotoxins associated with cyanobacteria and their removal during drinking water treatment. *Water Research* 36: 2627-2635.

Rohrlack T., Dittmann E., Henning M., Börner T., Kohl J.-G. (1999). Role of microcystins in poisoning and food ingestion inhibition of *Daphnia galeata* caused by the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology* 65(2): 737-739.

Romo S., Soria J., Fernandez F., Ouahid Y., Baron-Sola Á. (2013). Water residence time and the dynamics of toxic cyanobacteria. *Freshwater Biology* 58(3): 513-522.

Rzymiski P., Poniedziałek B., Kokociński M., Jurczak T., Lipski D., Wiktorowicz K. (2014). Interspecific allelopathy in cyanobacteria: Cylindrospermopsin and *Cylindrospermopsis raciborskii* effect on the growth and metabolism of *Microcystis aeruginosa*. *Harmful Algae* 35: 1-8.

Saker M.L., Griffiths D.J. (2000). The effect of temperature on growth and cylindrospermopsin content of seven isolates of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanophyceae) from water bodies in northern Australia. *Phycologia* 39(4): 349-354

Saker M.L., Neilan B.A. (2001). Varied diazotrophies, morphologies and toxicities of genetically similar isolates of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanophyceae) from Northern Australia. *Applied and Environmental Microbiology* 67(4): 1839-1845.

Schatz D., Keren Y., Vardi A., Sukenik A., Carmeli S., Börner T., Dittmann E., Kaplan A. (2007). Towards clarification of the biological role of microcystins, a family of cyanobacterial toxins. *Environ. Microbiol.* 9: 965-970.

Schmidt J. R., Wilhelm S. W., Boyer G. L. (2014). The fate of microcystins in the environment and challenges for monitoring. *Toxins* 6(12): 3354-3387.

Sevilla E., Martin-Luna B., Vela L., Bes M.T., Fillat M.F., Peleato M.L. (2008). Iron availability affects mcyD expression and microcystin-LR synthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806. *Environ. Microbiol.* 10(10): 2476-2483.

Sétude (2004). Etude sur les apports endogènes et exogènes en azote et phosphore dans l'Erdre. EDENN, 177 p.

Sétude et UBA (2004). Etude du développement des cyanobactéries : Etude des toxines liées aux cyanobactéries. EDENN, 82 p.

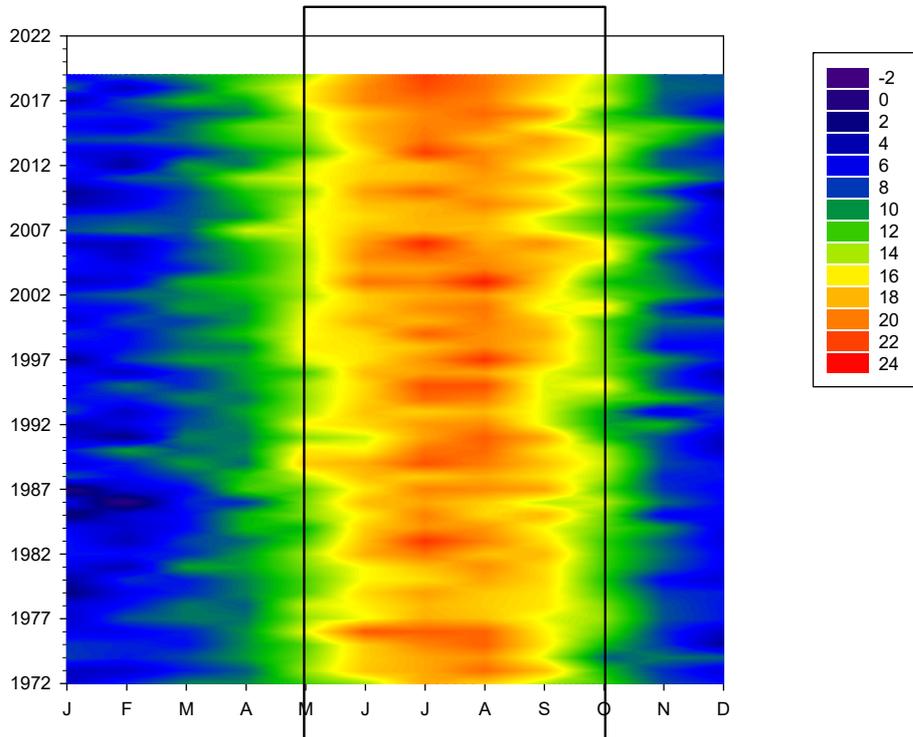
Shen X., Lam P.K.S., Shaw G.R., Wickramasinghe W. (2002). Genotoxicity investigation of a cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Toxicon* 40: 1499-1501

- Shen P. P., Zhao S.W., Zheng W.J., Hua Z.C., Shi Q., Liu Z.T. (2003). Effects of cyanobacteria bloom extract on some parameters of immune function in mice. *Toxicology Letters* 143: 27–36.
- Sivonen K. (1996). Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia* 35(6): 12-24.
- Sivonen K., Jones G. (1999). Cyanobacterial toxins. In: Chorus I. and Bartram J. (eds.) *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences. Monitoring and management.* E & FN Spon on behalf of WHO, London. p. 42-111.
- Sukenik A., Eshkol R., Livine A., Hadas O., Rom M., Tchernov D., Vardi A., Kaplan A. (2002). Inhibition of growth and photosynthesis of the dinoflagellate *Peridinium gatunense* by *Microcystis* sp. (cyanobacteria): a novel allelopathic mechanism. *Limnol. Oceanogr.* 47: 1656-1663.
- Svirčev Z., Lalic D., Bojadzija Savic G., Tokodi N., Drobac Backovic D., Chen L., Meriluoto J., Codd G. A. (2019). Global geographical and historical overview of cyanotoxin distribution and cyanobacterial poisonings. *Arch. Toxicol.* 93(9): 2429-2481. DOI 10.1007/s00204-019-02524-4
- Sychrová E., Štěpánková T., Nováková K., Bláha L., Giesy J. P., Hilscherová K. (2012). Estrogenic activity in extracts and exudates of cyanobacteria and green algae. *Environment International* 39(1): 134–140
- Teixeira M.G.L.C., Costa M.C.N., Carvalho V.L.P., Pereira M.P., Hage E. (1993). Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica Dam, Bahia, Brazil. *Bulletin of PAHO* 27(3): 244-253.
- Terao K., Ohmori S., Igarashi K., Ohtani I., Watanabe M.F., Harada K.I., Ito E., Watanabe M. (1994). Electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green alga *Umezakia natans*. *Toxicon* 32(7): 833-843
- Tett P., Heaney S.I., Droop M.R. (1985). The Redfield ratio and phytoplankton growth rate. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 65: 487-504.
- Tian L., Cheng J., Chen X., Cheng S. H., Mak Y.L., Lam P.K.S., Wang M. (2014). Early developmental toxicity of saxitoxin on medaka (*Oryzias melastigma*) embryos. *Toxicon* 77: 16–25.
- Tisdale E.S. (1931). Epidemic of intestinal disorders in Charleston, W.V., occurring simultaneously with unprecedented water supply conditions. *American Journal of Public Health* 21: 198-200.
- Tonk L., Visser P.M., Christiansen G., Dittmann E., Snelder E.O., Wiedner C., Huisman J. (2005) The microcystin composition of the cyanobacterium *Planktothrix agardhii* changes toward a more toxic variant with increasing light intensity. *Applied and Environmental Microbiology* 71(9): 5177-5181
- Trifirò G., Barbaro E., Gambaro A., Vita V., Clausi M.T., Franchino C., Palumbo M. P., Floridi F., De Pace R. (2016). Quantitative determination by screening ELISA and HPLC-MS/MS of microcystins LR, LY, LA, YR, RR, LF, LW, and nodularin in the water of Occhito lake and crops. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 408(27): 7699-7708.
- Turner P.C., Gammie A.J., Hollinrake K., Codd G.A. (1990). Pneumonia associated with contact with cyanobacteria. *British Medical Journal* 300(6737): 1440-1441.
- Ueno Y., Nagata S., Tsutsumi T., Hasegawa Akihiro, Watanabe M.F., Park H.-D., Chen G.-C., Chen G., Yu S.-Z. (1996). Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis* 17(6): 1317-1321.
- Utkilen H., Gjølme N. (1995). Iron-stimulated toxin production in *Microcystis aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:797-800.
- Van Donk E., Van de Bund W.K. (2002). Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto- and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms. *Aquatic Botany* 72: 261-274.
- Vasconcelos V., Evans W.R., Carmichael W.W., Namikoshi M. (1993). Isolation of microcystin-LR from a *Microcystis* (Cyanobacteria) waterbloom collected in the drinking water reservoir for Porto, Portugal. *J. Environ. Sci. Health* 28 (9): 2081-2094.
- Watson S.B., Zastepa A., Boyer G.L., Matthews E. (2017). Algal bloom response and risk management: On-site response tools. *Toxicon* 129: 144-152.

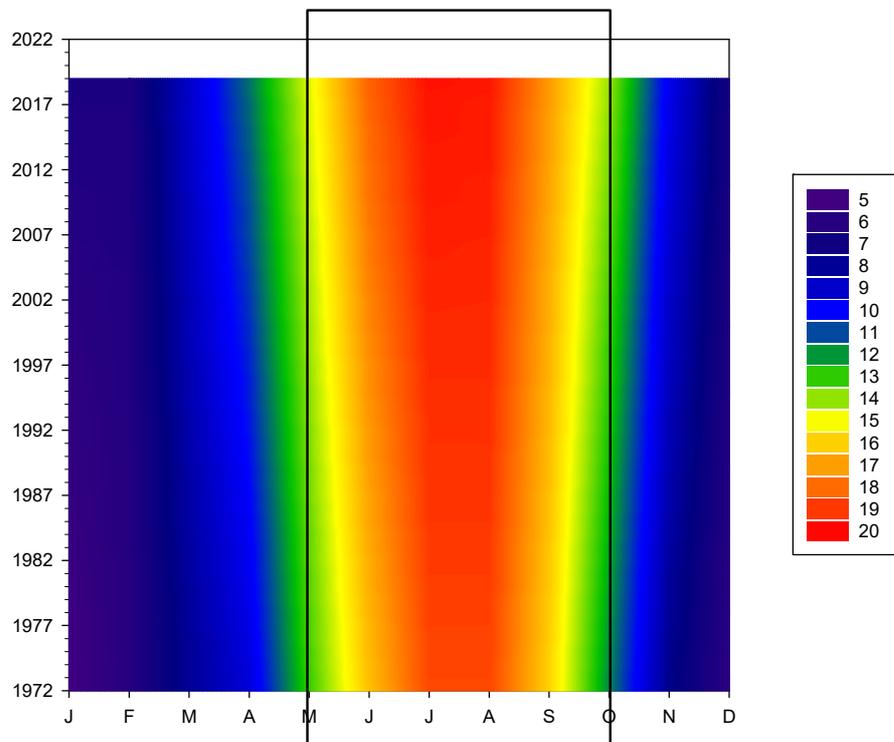
- Weyhenmeyer, G.A. (2001). Warmer Winters: Are Planktonic Algal Populations in Sweden's Largest Lakes Affected ? *AMBIO* 30(8): 565-572.
- Wiedner C., Rücker J., Brüggemann R., Nixdorf B. (2007). Climate change affects timing and size of populations of an invasive cyanobacterium in temperate regions. *Oecologia*, 152(3), 473–84.
- Wood, R. (2016). Acute animal and human poisonings from cyanotoxin exposure - A review of the literature. *Environment International* 91: 276-282
- Young F.M., Micklem J., Humpage A.R. (2008). Effects of blue-green algal toxin cylindrospermopsin (CYN) on human granulosa cells in vitro. *Reproductive Toxicology*, 25(3), 374–80.
- Yu S.Z. (1995). Primary prevention of hepatocellular carcinoma. *Journal of gastroenterology and hepatology* 10(6): 674-682.
- Žak A., Musiewicz K., Kosakowska A. (2012). Allelopathic activity of the Baltic cyanobacteria against microalgae. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 112: 4-10.
- Zegura B., Gajski G., Straser A., Garaj-Vrhovac V., Filipič M. (2011a). Microcystin-LR induced DNA damage in human peripheral blood lymphocytes. *Mutation Research* 726(2): 116–122.
- Zegura B., Straser A., Filipič M. (2011b). Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins - a review. *Mutation Research* 727(1-2): 16–41.
- Zerrifi S., Kasrati A., El Mahdi R., Tazart Z., El Khalloufi F., Abbad A., Oudra B., Campos A., Vasconcelos V. (2020). Essential oils from Moroccan plants as promising ecofriendly tools to control toxic cyanobacteria blooms. *Industrial Crops and Products* 143. DOI 10.1016/j.indcrop.2019.111922
- Zhao Y., Yan Y., Xie L., Wang L., He Y., Wan X., Xue Q. (2020). Long-term environmental exposure to microcystins increases the risk of nonalcoholic fatty liver disease in humans: A combined fisher-based investigation and murine model study. *Environment International* 138: 105648.
- Zilliges Y., Kehr J.-C., Mikkat S., Bouchier C., Tandeau de Marsac N., Börner T., Dittmann E. (2008). An extracellular glycoprotein is implicated in cell-cell contacts in the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Journal of Bacteriology* 190(8): 2871-2879.
- Zilliges Y., Kehr J.-C., Meissner S., Ishida K., Mikkat S., Hagemann M., Kaplan A., Börner T., Dittmann E. (2011). The cyanobacterial hepatotoxin binds to proteins and increases the fitness of *Microcystis* under oxydative stress conditions. *PLoS One* 6(3):e17615. DOI 10.1371/journal.pone.0017615.

Annexe 2- Données hydro-climatologiques

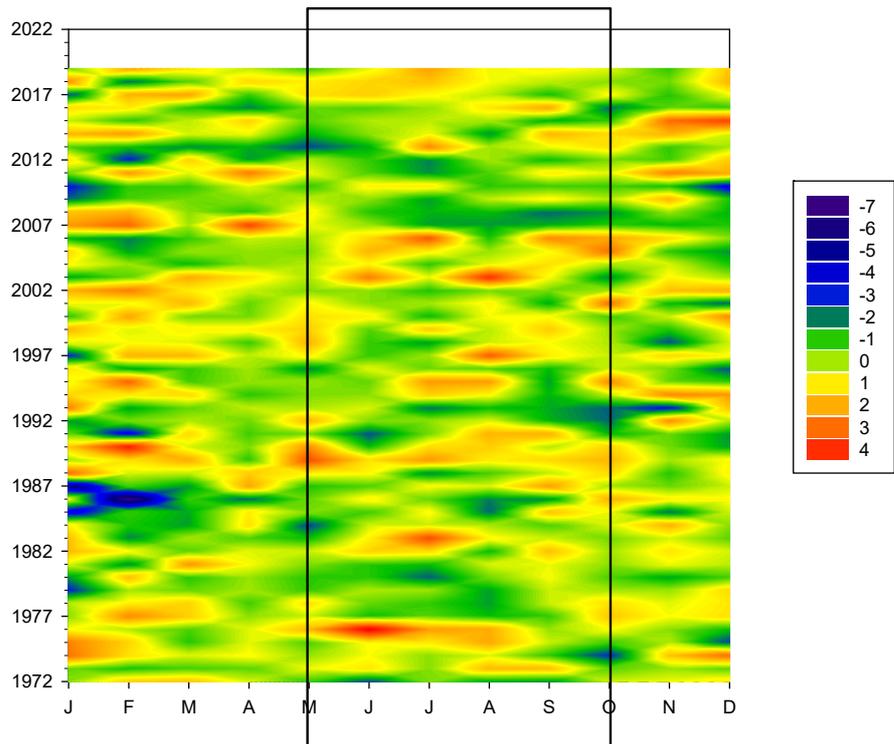
Température moyenne mensuelle (°C): 1972-2019



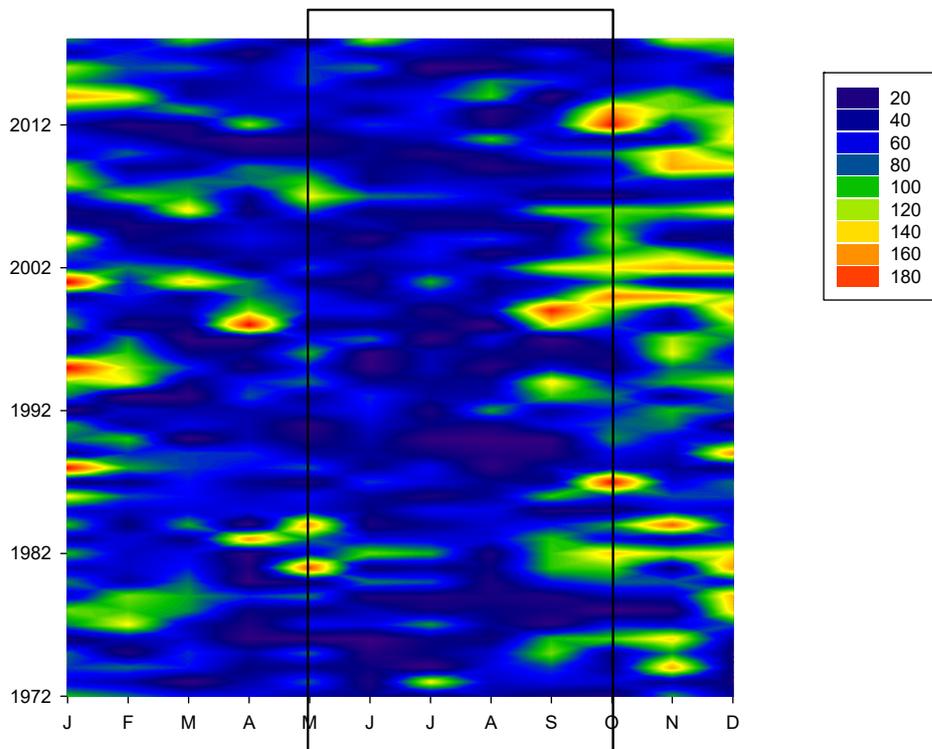
Température moyenne mensuelle (°C): tendance 1972-2019



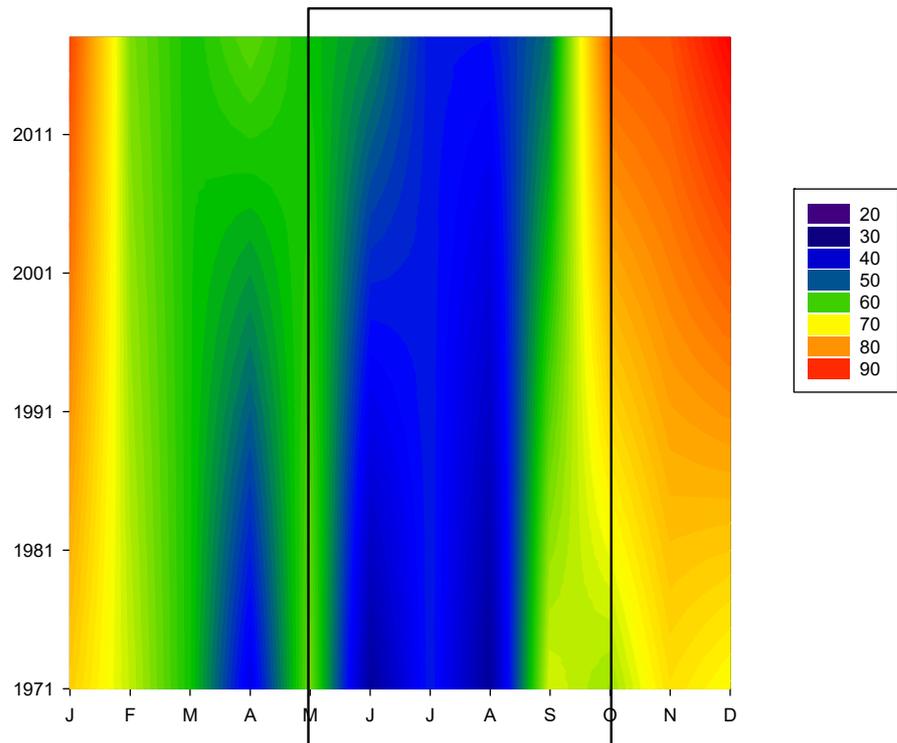
Température moyenne mensuelle (°C): écarts à la tendance 1972-2019



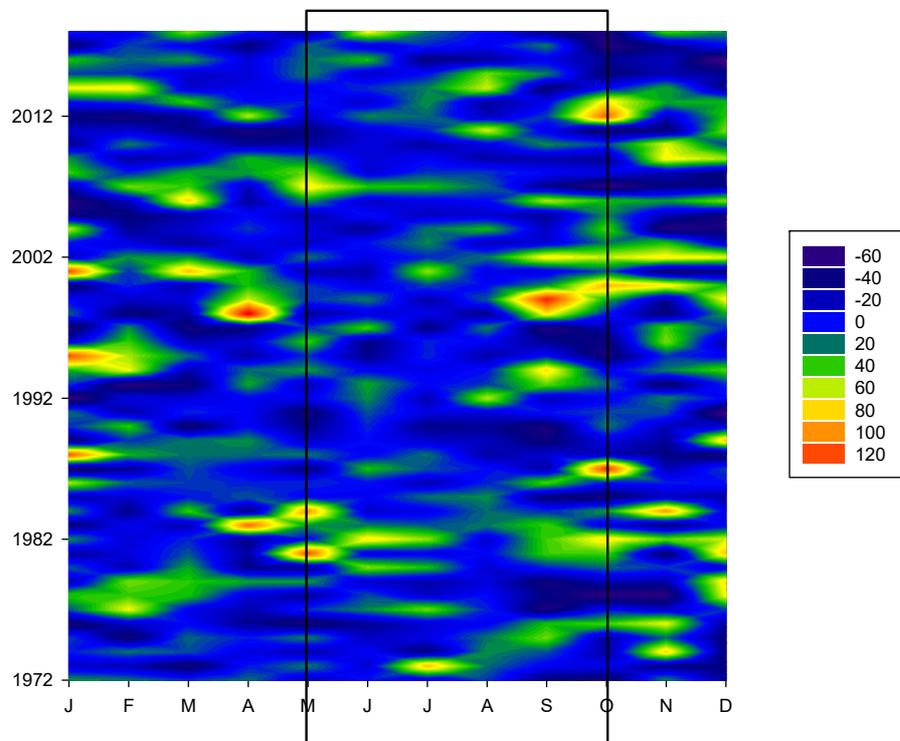
Pluviométrie cumulée mensuelle (mm): 1972-2019



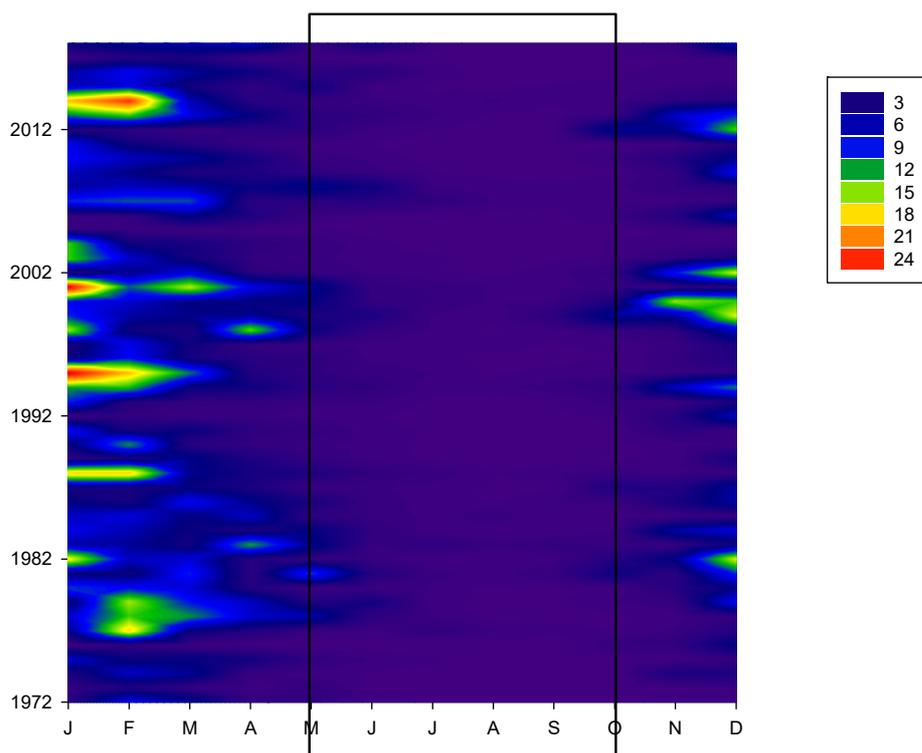
Pluviométrie cumulée mensuelle (mm): tendance 1972-2019



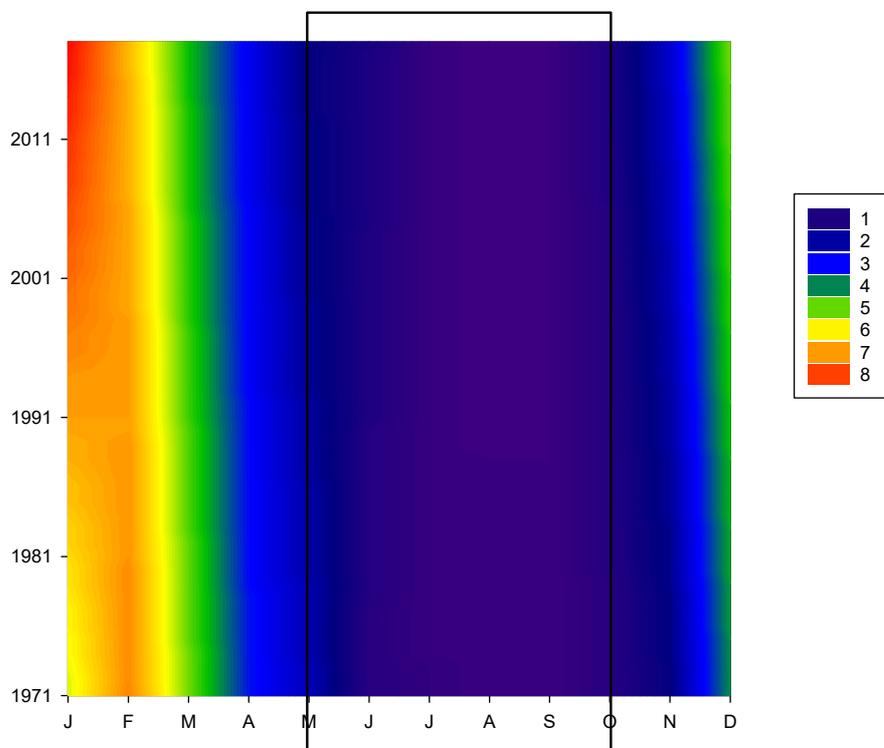
Pluviométrie cumulée mensuelle (mm): écarts à la tendance 1972-2019



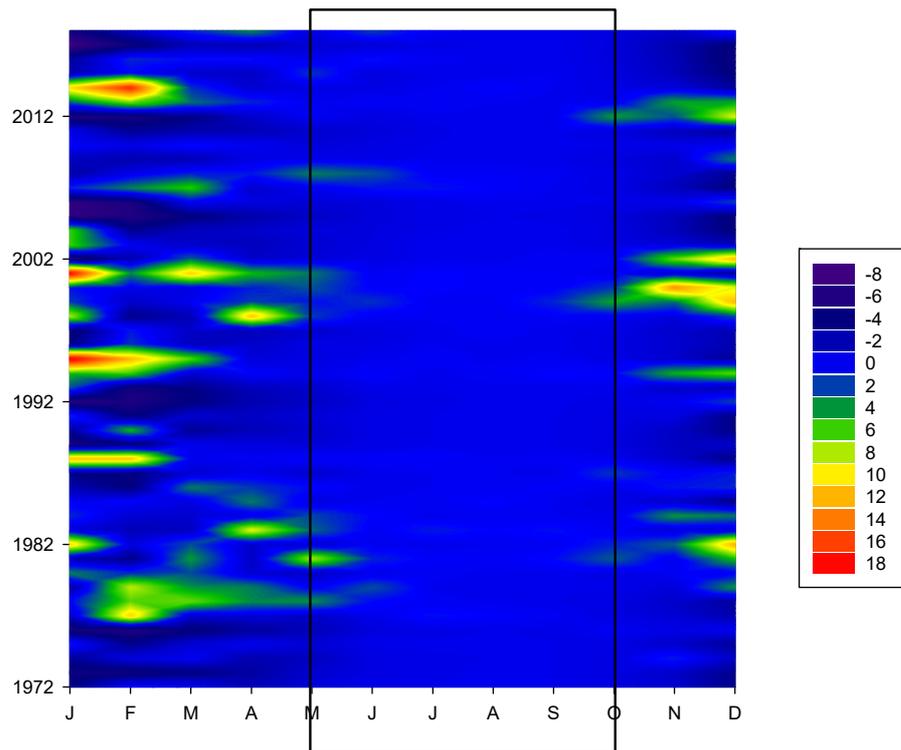
Débit moyen mensuel (m³/s): 1972-2019



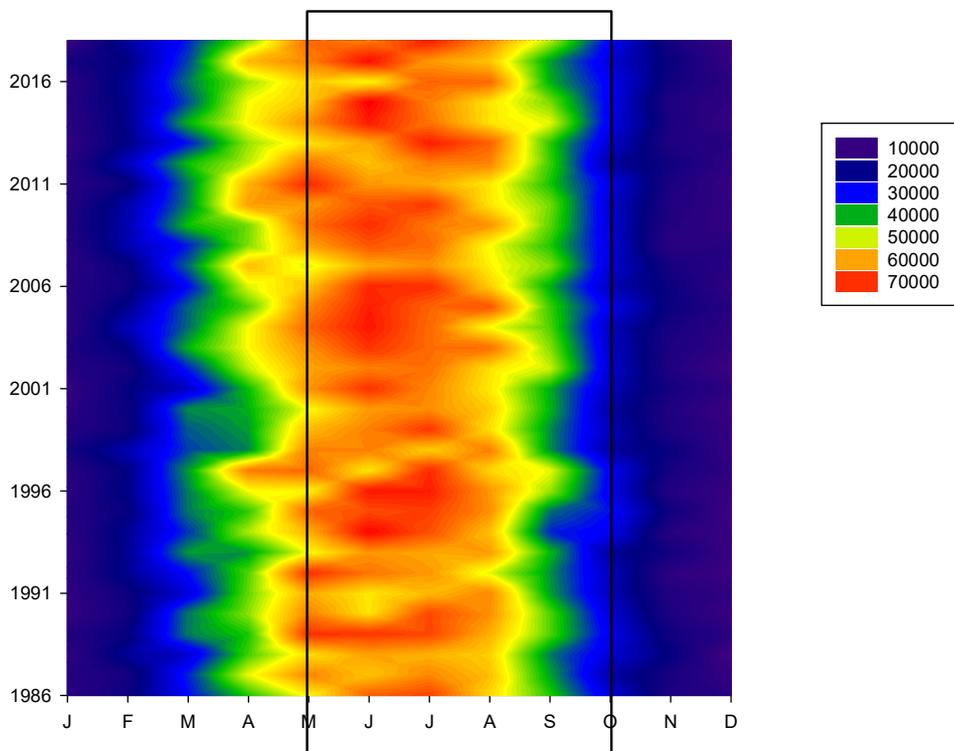
Débit moyen mensuel (m³/s): tendance 1972-2019



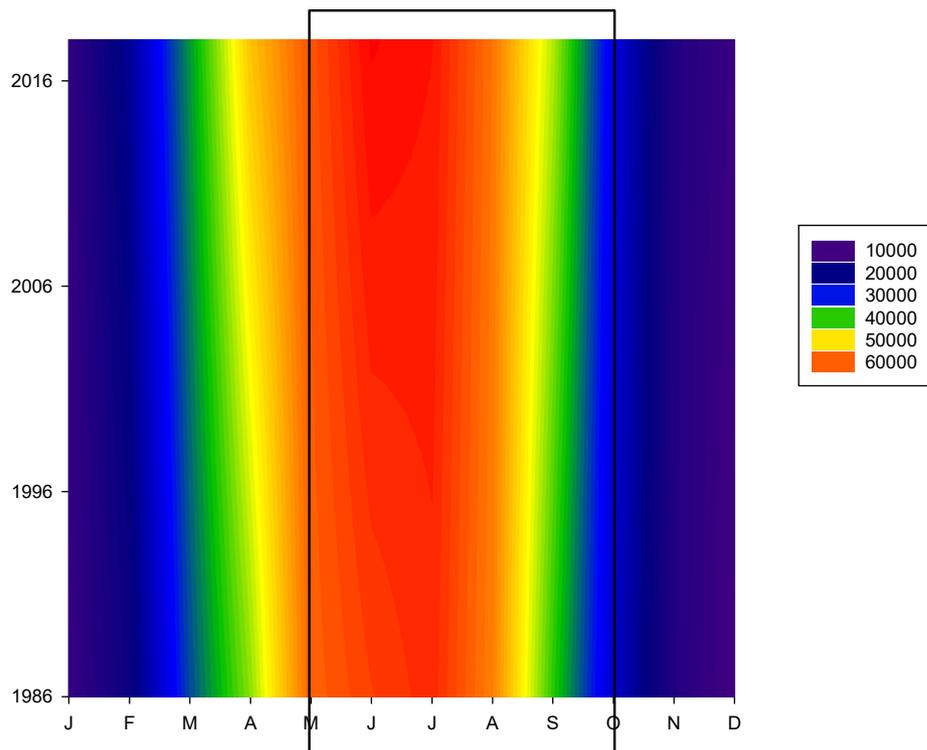
Débit moyen mensuel (m³/s): écarts à la tendance 1972-2019



Rayonnement cumulé mensuel (W/m²): 1986-2019



Rayonnement cumulé mensuel (W/m²): tendance 1986-2019



Rayonnement cumulé mensuel (W/m²): écarts à la tendance 1986-2019

