

Suivi de la prolifération d'algues avec la sonde spectrofluorimétrique

Pascal Perney¹

Résumé : La protection des écosystèmes aquatiques et leur restauration constituent un enjeu essentiel en terme d'environnement, de ressource en eau et d'aménagement du territoire. Des micro algues (phytoplancton) présentes dans les grands lacs alpins peuvent être gênantes. Il faut donc surveiller ces espèces et leur dynamique pour intervenir rapidement et prévenir les risques liés à leur propagation. La compagnie allemande Moldaenke a développé une sonde spectrofluorimétrique immergeable (BBE Fluoroprobe) pour réaliser une surveillance rapide et efficace des plans d'eau par la mesure de la fluorescence de la chlorophylle a, pigment présent dans le phytoplancton, en qualité et en quantité variables selon les espèces. Ces données sont utilisées dans le suivi des grands lacs assuré par la Station d'Hydrobiologie Lacustre de l'Inra de Thonon-les-Bains

Mots clés : Sonde spectrofluorimétrique, communautés algales, fluorescence, cyanobactéries, suivi de la qualité des eaux des lacs.

Introduction

Certaines espèces de cyanobactéries présentent un caractère toxique ; les risques engendrés par la prolifération de ces microorganismes en période estivale, est un problème récurrent qui influe sur le classement des zones de baignades. Un suivi régulier permet d'alerter les gestionnaires de plans d'eau et les élus en cas de concentration trop élevée. La station Inra de Thonon en collaboration avec des organismes tel que la CIPEL², le SILA³ et le CISALB⁴, réalise le suivi de ces grands lacs. La mesure de la chlorophylle est un moyen simple et rapide de détecter la présence et l'abondance des phytoplanctons. Cette mesure est réalisée au laboratoire depuis des années par des méthodes d'analyses donnant des résultats précis, mais différés, représentant une lourde charge de travail. A la suite de l'apparition massive à la fin des années 1990 dans le lac du Bourget d'une cyanobactérie toxique, *Planktotrix Rubescens*, l'équipe EMA⁵ s'est dotée d'une sonde spectrofluorimétrique qui donne un résultat immédiat, permettant la réactivité des organismes de contrôle face à un pic de concentration, et augmentant la précision des prélèvements d'échantillons ponctuels.

1. Les acteurs

1.1 Le phytoplancton

La connaissance des espèces en présence (**photo 1**) et de leur abondance est un élément biologique fondamental pour appréhender la structure et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques. Des dérèglements, même infimes, peuvent avoir un impact sur l'écosystème entier, zooplancton, poissons... On parle alors de dystrophie (See et al. 2005). Cette prolifération donne naissance à des dépôts organiques qui sédimentent sur les fonds, provoquant l'appauvrissement en oxygène et donc la réduction des espèces qui y vivent. Des espèces comme les cyanobactéries peuvent provoquer des lésions au foie (Ressom et al. 1994) et des troubles neuroaux. (*Planktothrix*, *Anabaena*, *Nostoc*)

¹ INRA UMR CARTELE - Centre Alpin de Recherche sur les Réseaux Trophiques des Ecosystèmes Limniques - Station d'Hydrobiologie Lacustre - 75 av de Corzent - 74200 Thonon-les-bains ☎ 03 80 69 32 19 perney@thonon.inra.fr

² CIPEL : commission internationale pour la protection des eaux du Léman

³ SILA : Syndicat Mixte du Lac d'Annecy

⁴ CISALB : Comité Intersyndical d'Assainissement du Lac du Bourget

⁵ EMA : écologie microbienne aquatique



Photo 1 : Exemples de formes de phytoplancton rencontrées dans les lacs alpins (d'après Inra SHL Thonon les bains de gauche à droite : *Fragillaria crotonensis*, *Cryptomonas*, *Planktothrix rubescens*, *Dinobryon divergens*, *Eudorina elagans*, *Asterionella formosa*)

	Longueur d'onde d'excitation (nm)	
Chlorophycées	450 nm	<i>Eudorina elagans</i>
Cyanophycées	610 nm	<i>Planktothrix rubescens</i>
Diatomées	525 nm	<i>Asterionella formosa</i>
Cryptophycées	570-590 nm	Rhodomonas minuta
Substances colloïdales	370 nm	
Ré-émission lumineuse	680 nm	

Tableau 1 : Classes de phytoplancton lacustre et longueur d'onde d'excitation

1.2 La lumière est un des facteurs clés qui conditionne la présence du phytoplancton au voisinage de la surface (Anneville et *al.* 2002). La répartition des classes algales s'explique par la quantité et qualité de lumière perçue par les organismes. Les saisons et donc les conditions climatiques ont aussi un impact puisque la température, la transparence et la structure de la colonne d'eau ne sont pas les mêmes en été et en hiver. Précisons aussi que la masse d'eau agit comme un filtre sur les rayons lumineux ce qui laisse pénétrer différentes longueurs d'onde à plusieurs profondeurs. Les Chlorophycées se situent en surface. Les Diatomées tolèrent d'importantes variations thermiques et une faible intensité lumineuse. Les Cyanobactéries nécessitent moins de lumière car elles possèdent plus de pigments dont certains leur permettent d'utiliser les longueurs d'ondes plus en profondeur.

1.3 Les nutriments tels que nitrates, silicates et phosphates sont des indicateurs de prolifération planctonique, le phosphore reconnu comme facteur limitant de l'eutrophisation et donc comme un paramètre primordial de la qualité des eaux lacustres (Falciatore et *al.*, 2002), il est principalement présent sous forme de PO_4^{3-} . L'azote est présent dans les écosystèmes d'eau douce sous de nombreuses formes : N_2 , NH_4^+ (ammonium), NO_2^- (nitrites), NO_3^- (nitrates) biodisponibles.

1.4 La chlorophylle a (chl *a*), est un pigment photosynthétique présent dans toutes les espèces du phytoplancton, eucaryotique (algues) et procaryotique (cyanobactéries). Nous utilisons plusieurs méthodes de laboratoire pour extraire et doser ce pigment :

- la spectrophotométrie qui mesure la densité optique ;
- la fluorimétrie qui mesure la fluorescence des pigments ;
- la chromatographie (HPLC)⁶ qui sépare les différents composés organiques, est utilisée pour déterminer les pigments et les concentrations en toxines ;
- les comptages phytoplanctoniques, par observation au microscope.

Ces méthodes représentent une charge de travail importante et donne des résultats précis mais différés, réduisant la réactivité face à des seuils élevés (Gregor et *al.*, 2004). Les sondes multiparamètres, la sonde spectrofluorimétrique palient ce problème mais elles sont coûteuses.

⁶ Chromatographie liquide haute performance

2. La sonde spectrofluorimétrique BBE Fluoroprobe

Les sondes spectrofluorimétriques analysent et mesurent la fluorescence de la chlorophylle *a* des différentes espèces par une excitation lumineuse directement dans l'eau. Elles permettent l'étude du phytoplancton en temps réel et en continu dans la colonne d'eau. Ces sondes sont reliées à un micro-ordinateur pour visualiser les données et leurs représentations graphiques sous forme de profils verticaux.

2.1 Caractéristiques techniques de la sonde spectro fluorimétrique immergeable (BBE Fluoroprobe) développée par la compagnie allemande Moldaenke. Elle utilise la lumière, l'eau et le phytoplancton pour déterminer la présence et la quantité des classes d'algue avec 5 diodes qui émettent à différentes longueurs d'onde pour exciter les pigments de chaque classe de phytoplancton (Moldaenke, 2002) Avant utilisation, la sonde est calibrée par le constructeur ce qui s'effectue t en plusieurs étapes. Il faut d'abord vérifier la qualité et la régularité du flux de lumière émise par les LEDs (diodes à lumière monochromatique) ; ensuite, il faut soustraire deux autres signaux provenant :

- de la sonde elle même (électronique et système optique) par une lecture d'eau désionnisée,
- des substances fluorescentes dans l'eau qui ne sont pas des algues, par une lecture d'eau ultra filtrée.

A l'étape suivante on mesure avec la sonde des produits qui fluorescent à la même longueur d'onde que les classes d'algues que l'on veut repérer ; ce sont les *fingerprints* ou empreintes de chaque classe algale ; ces résultats sont enregistrés. Sur les 5 diodes disponibles, on peut choisir de calibrer une classe pour une étude ou un suivi ; c'est ce que nous avons réalisé pour l'étude des cyanobactéries dans le suivi du lac du Bourget (Leboulanger et *al.* 2002). Les concentrations seront calculées à partir de ces paramètres de calibration.

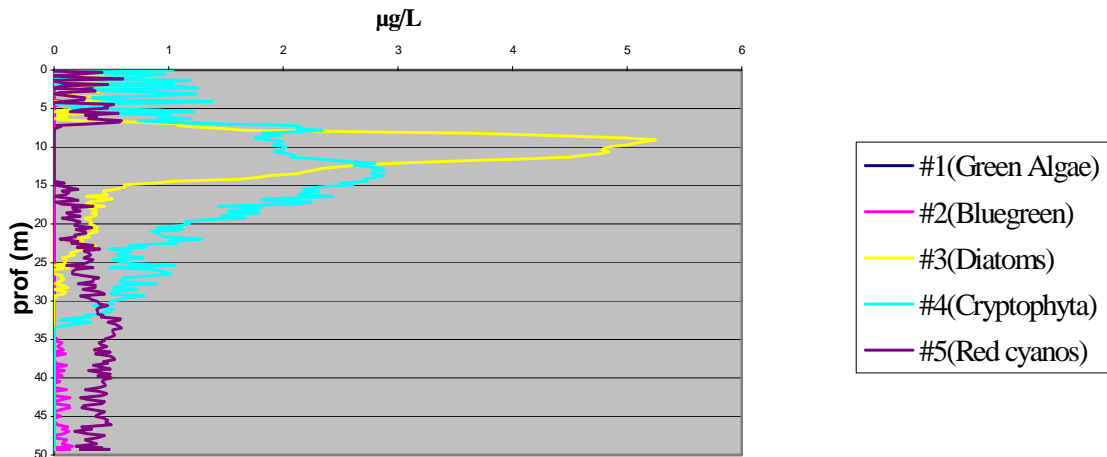


Photo 2 : sonde BBE Fluoroprobe

2.2 Utilisation sur le terrain

Nous réalisons mesures et prélèvements sur les lacs (sondes de lumière, sondes multiparamétriques...) à des profondeurs définies pour optimiser l'échantillonnage et les analyses et estimer l'état de la colonne d'eau. Pour utiliser la sonde, on la suspend au câble d'un treuil, on branche les câbles de connexion à l'ordinateur, puis on l'immerge lentement jusqu'à la profondeur souhaitée (100 m maximum).

Les diodes allumées excitent les pigments aux différentes longueurs d'ondes des classes algales recherchées (**tableau 1**) ; la ré-émission lumineuse des algues est captée par une cellule photo-électrique à 680 nm. Au fur et à mesure de la descente, la répartition des communautés algales et les pics éventuels (**graphique 3**) s'affichent à l'écran, permettant ainsi de faire un prélèvement à la profondeur observée et de mieux estimer la quantité et la qualité d'algues toxiques. La chlorophylle *a* totale est déterminée par la somme des multiples groupes recensés ; les concentrations sont données en µg équivalent de chl *a*/litre. Des capteurs donnent la température de l'eau et déterminent les profondeurs d'observation. Ces résultats pourront être mentionnés dans les rapports annuels sur l'état des lacs remis aux gestionnaires des plans d'eau. Ils sont aussi publiés dans des revues spécialisées.



Graphique 3 : résultat d'une mesure (observation d'un pic de diatomées à 10 m)

Conclusion

D'après Leboulanger et *al.* (2002), la détermination de la chl *a* basée sur la fluorescence *in vivo* (avec une sonde submersible) est une méthode de choix pour la surveillance régulière de la biomasse phytoplanctonique. Les résultats sont précis pour l'aspect qualitatif car leur corrélation avec les observations en laboratoire (taxonomie) est bonne, mais la méthode doit être affinée pour l'aspect quantitatif. Les comparaisons avec les comptages au microscope ou l'utilisation d'autres sondes BBE, ne donnent pas toujours les mêmes valeurs, d'où l'importance de la calibration. Les résultats exportables sous Excel, ne sont pas faciles à exploiter ou à transposer d'une sonde à l'autre à cause des paramètres liés à la sonde (**cf. 2.1**). Les proliférations phytoplanctoniques font parties des sujets qui préoccupent les gestionnaires et les élus en charge de plan d'eau. Les études récentes ont mis en évidence le rôle des nutriments phosphorés et azotés dans la production de biomasse par les algues. Les objectifs de réduction des intrants passent par une meilleure compréhension des mécanismes de fonctionnement des écosystèmes ; pour cela il faut poursuivre le développement et l'affinage des méthodes de surveillance rapide et efficace, telle que la sonde BBE Fluoroprobe. La poursuite des mesures simultanées, une meilleure exploitation des données et la corrélation avec les données obtenues en laboratoire, valoriseraient mieux le matériel et les résultats.

Bibliographie

- Anneville O, Ginot V, Druart JC, Angeli N (2002) Long term study (1974-1998) of seasonal changes in the phytoplankton in lake Geneva: a multiple table approach. *Journal of plankton research*. 24(10) 993-1007.
- Falciatore A, Bowler C (2002) Revealing the molecular secrets of marine diatoms. *Annual Review of Plant Biology*. 53, 109-130.
- Gregor J, Marsalek B (2004) Freshwater phytonplankton quantification by chlorophyll *a*: a comparative study of in vitro, in vivo and in situ method. *Water research* 38,517-522
- Leboulanger C, Dorigo U, Jacquet S, Le Berre B, Paolini G, Humbert JC (2002) Application of a submersible fluorometer for rapid monitoring of freshwater cyanobacterial bloom: a case of study. *Aquat Microb Ecol* 30,83-89
- Moldaenke (2002) The bbe Fluoroprobe. Software manual .31 pp
- See JH, Campbell L, Richardson TL, Pinckney JL, Shen R, Norman L, Guinasso jr. (2005) Combining new technologies for determination of phytoplankton community structure in the northern gulf of Mexico. *J. Phycol.*41, 305-310.