UNIVERSITÉ DU QUÉBEC INRS - Eau

CAPACITÉ PHOTOHÉTÉROTROPHE DES MICROALGUES PÉRIPHYTIQUES SOUMISES À UN EFFLUENT DE PÂTES ET PAPIERS

Par Raynald Chassé M.Sc. en productivité aquatique

Thèse présentée pour l'obtention du grade de Philosophiae doctorat (Ph.D.) en Sciences de l'eau

Jury d'évaluation

Présidente du jury et examinatrice externe

Examinatrice externe

Examinateur interne

Examinateur interne et co-directeur de recherche

Directeur de Recherche

Docteur Dolors Planas Département des Sciences Biologiques Université du Québec à Montréal

Docteur Christiane Hudon Chercheur Scientifique Centre Saint-Laurent

Docteur Peter G. Campbell Professeur INRS-Eau

Docteur Christian Amblard Directeur de Recherche CNRS Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand II

Docteur Pierre Couture Recteur Université du Québec à Rimouski

Thèse soutenue le 21 juillet 1997

© droits réservés de Raynald Chassé, 1997

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES i
LISTE DES TABLEAUX v
LISTE DES FIGURES ix
RÉSUMÉ xiv
REMERCIEMENTS xviii
CHAPITRE I: INTRODUCTION 1
CHAPITRE II: ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE 6
2.1 L'HÉTÉROTROPHIE MICROALGALE
2.1.1 Observations faites en laboratoire
2.1.2 Observations faites en milieu naturel
2.2 LE PÉRIPHYTON 13
2.2.1 Principaux facteurs de développement du périphyton 14
2.2.2 Stades de développement du périphyton
2.2.3 Le périphyton et la qualité de l'eau
2.2.4 Aspects méthodologiques concernant l'étude du périphyton 25

	ii
2.3 LES EFFLUENTS DE PÂTES ET PAPIERS	30
2.3.1 Les effluents de pâtes et papiers et la qualité de l'eau	31
2.3.2 Effets sur les communautés microalgales	33
CHAPITRE III: MÉTHODOLOGIE	37
3.1 ÉTUDES EN MILIEU NATUREL	38
3.1.1 Plans expérimentaux	38
3.1.2 Paramètres abiotiques	44
3.1.3 Paramètres biotiques	46
3.1.4 Études microautoradiographiques	54
3.1.5 Isolement des espèces microalgales périphytiques	55
3.2 ÉTUDES EN CANAUX EXPÉRIMENTAUX	56
3.2.1 Plans expérimentaux	56
3.2.2 Paramètres abiotiques et biotiques	58
3.3 CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DE	
L'EFFLUENT	60
3.4 ANALYSES STATISTIQUES	.63
CHAPITRE IV: RÉSULTATS	64
4.1 CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES, BIOLOGIQUES ET	
TOXICOLOGIQUES DE L'EFFLUENT PUR	65
4.2 ÉTUDES EN MILIEU NATUREL	69
4.2.1 Évolution des caractéristiques physico-chimiques et biologiques	
des eaux de la rivière Malbaie	69
4.2.2 Évolution de la structure des communautés périphytiques	77
4.2.3 Évolution du fonctionnement des communautés périphytiques	89

iii
4.3 ÉTUDES EN CANAUX EXPÉRIMENTAUX 121
4.3.1 Évolution des caractéristiques physico-chimiques des eaux
surnageantes
4.3.2 Évolution de la structure des communautés périphytiques 127
4.3.3 Évolution du fonctionnement des communautés périphytiques 141
CHAPITRE V: DISCUSSION
5.1 ASPECTS MÉTHODOLOGIQUES 160
5.1.1 Représentativité des échantillons et des mesures effectuées 160
5.1.2 Interférence bactérienne 165
5.2 EFFETS DE L'EFFLUENT SUR LA STRUCTURE DES
COMMUNAUTÉS PÉRIPHYTIQUES 166
5.3 EFFETS DE L'EFFLUENT SUR LE FONCTIONNEMENT DES
COMMUNAUTÉS PÉRIPHYTIQUES 174
5.4 ÉTUDES EN CANAUX EXPÉRIMENTAUX ET EN MILIEU
NATUREL: APPLICATION EN ÉVALUATION ÉCOTOXI-
COLOGIQUE
CHAPITRE VI: CONCLUSION
CHAPITRE VII: BIBLIOGRAPHIE 192
ANNEXE

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1:	Caractérisation physico-chimique des eaux de surface des stations
	d'étude en milieu naturel
Tableau 3.2:	Concentrations et activités finales des substances organiques
	marquées employées lors des différentes études
Tableau 3.3:	Taux de dilution de l'effluent à la station en aval en 1990 59
Tableau 3.4:	Variables physico-chimiques mesurés dans les échantillons de
	l'effluent pur
Tableau 4.1:	Caractéristiques physico-chimiques, biologiques et toxicologiques
	de l'effluent pur en 1989 et 1990
Tableau 4.2:	Valeurs mensuelles moyennes de la concentration en matière en
	suspension (MES), de la demande biochimique en oxygène sur 5
	jours (DBO ₅) et du débit de l'effluent pur en 1989, 1990, 1992 et
	1993
Tableau 4.3:	Caractéristiques physico-chimiques et biologiques des eaux de
	la rivière Malbaie à la station en amont (A) et à la station en aval
	(B) pour les quatre années d'étude. La situation géographique des
	stations est représentée à la figure 3.1
Tableau 4.4:	Comparaison interannuelle de la qualité estivale des eaux de la
	rivière Malbaie, telle que déterminée à la station en amont (A) et
	à la station en aval (B) - niveau de signification du test «t» pour
	données appariées pour les variables physico-chimiques (compa-
	raison d'années 1989/1990, 1990/1991 et 1991/1993)72

Tableau 4.5:	Caractéristiques physico-chimiques de la rivière Malbaie pour la
	période de 1984 à 1996
Tableau 4.6:	Valeurs des coefficients de corrélation de Spearman entre différents
	paramètres chimiques et biotiques (valeurs significatives pour:
	$p \le 0,05, *p \le 0,01, **p \le 0,001$)
Tableau 4.7:	Caractéristiques physico-chimiques et biologiques des eaux du
	ruisseau se déversant au niveau de la station B en 1990
Tableau 4.8:	Niveau de signification du test «t» pour les variables de structure
	des communautés périphytiques se développant à la station en
	amont (A) et à la station en aval (B) en 1989, 1990, 1991 et 199379
Tableau 4.9:	Niveau de signification du test «t» pour les variables de fonction-
	nement des communautés périphytiques associées à l'assimila-
	tion du carbone inorganique dissous (à la station en amont (A)
	et à la station en aval (B) en 1989, 1990, 1991 et 1993)
Tableau 4.10	Pourcentages d'incorporation moyens (M), minimaux (MIN)
	et maximaux (MAX) du carbone inorganique dans les macro-
	molécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM)
	pour les trois années d'étude en milieu naturel
Tableau 4.11	:Niveau de signification du test «t» pour les variables de fonction-
	nement des communautés périphytiques associées à l'assimila-
	tion du carbone organique marqué (à la station en amont (A)
	et à la station en aval (B) en 1989, 1990, 1991 et 1993) 106
Tableau 4.12:Pourcentages d'incorporation moyens (M), minimaux (MIN)	
	et maximaux (MAX) de la radioactivité liée au carbone
	organique dans les macromolécules et les composés de faible
	poids moléculaire (CFPM) pour les trois années d'étude en
	milieu naturel

Tableau 4.13:Nombre de cellules marquées et non marquées chez les
espèces isolées des communautés microalgales périphytiques
prélevées en amont et en aval du rejet de l'effluent
Tableau 4.14:Caractéristiques physico-chimiques et biologiques des eaux
surnageantes dans les quatre canaux expérimentaux en 1990123
Tableau 4.15:Caractéristiques physico-chimiques et biologiques des eaux
surnageantes dans les quatre canaux expérimentaux en 1991124
Tableau 4.16:Niveau de signification du test «t» pour données appariées pour
les variables physico-chimiques entre les deux années d'étude en
canaux expérimentaux ainsi qu'entre la station en amont (A) et
le canal 0% (v/v) et entre la station en aval (B) et le canal 10%
(v/v) en 1990 126
Tableau 4.17:Niveau de signification du test «t» pour les variables de structure
des communautés périphytiques se développant dans les canaux
expérimentaux en 1990 et 1991
Tableau 4.18:Niveau de signification du test «t» pour les variables de fonction-
nement des communautés périphytiques associées à l'assimila-
tion du carbone inorganique dissous (canaux expérimentaux
en 1990 et 1991)
Tableau 4.19:Pourcentages d'incorporation moyens (M), minimaux (MIN)
et maximaux (MAX) du carbone inorganique dans les macro-
molécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM)
dans les quatre canaux expérimentaux
Tableau 4.20:Niveau de signification du test «t» pour les variables de fonction-
nement des communautés périphytiques associées à l'assimila-
tion du carbone organique marqué (canaux expérimentaux en
1990 et 1991)

vii

Tableau 4.21:Pourcentages d'incorporation moyens (M), minimaux (MIN)
et maximaux (MAX) de la radioactivité liée au carbone
organique dans les macromolécules et les composés de faible
poids moléculaire (CFPM) dans les quatre canaux expérimentaux.158

Tableau 5.1:	Résumé des résultats obtenus pour les mesures des variables
	physico-chimiques et biologiques effectuées dans les eaux de
	surface de la rivière Malbaie et dans les eaux surnageantes des
	canaux expérimentaux en 1990
Tableau 5.2:	Charges moyennes calculées en nitrites-nitrates et en silice
	pour la station en amont, la station en aval, l'effluent et le
	ruisseau se déversant à la station en aval en 1990
Tableau 5.3:	Résumé des résultats obtenus pour les mesures des variables
	biotiques effectuées dans la rivière Malbaie et dans les canaux
	expérimentaux en 1990

LISTE DES FIGURES

Figure 3.1:	Localisation des stations d'échantillonnage sur la rivière Malbaie 40
Figure 3.2:	Échantillonneurs supportant les substrats artificiels à la station en
	amont (A) et en aval (B) du point de rejet de l'effluent
Figure 3.3:	Vue en plongée (A) et latérale (B) de l'échantillonneur supportant
÷	les substrats artificiels
Figure 3.4:	Représentation graphique des études réalisées en rivière et
	en canaux expérimentaux
Figure 3.5:	Valeurs d'assimilation photohétérotrophe et photolithotrophe
	obtenues après incubation (sans Lugol) et 48 heures après incubation
	et ajout de Lugol (avec Lugol) (x écart-type)52
Figure 3.6:	Montage expérimental utilisé lors des études en laboratoire 57
Figure 4.1:	Évolution de la densité bactérienne périphytique pour les quatre
	années d'étude
Figure 4.2:	Importance relative (compte des cellules) des différentes classes
	de microalgues et de cyanobactéries en 1989 81
Figure 4.3:	Importance relative (compte des cellules) des différentes classes
	de microalgues et de cyanobactéries en 1990 82
Figure 4.4:	Importance relative (compte des cellules) des différentes classes
	de microalgues et de cyanobactéries en 1991 83
Figure 4.5:	Importance relative (compte des cellules) des différentes classes
	de microalgues et de cyanobactéries se développant sur les
	substrats naturels (pierres prélevées au fond de la rivière le 20
	juillet 1990)

Figure 4.6:	Évolution de la diversité spécifique aux deux stations étudiées
Figure 4.7:	Évolution de la biomasse microalgale périphytique pour les quatre
	années d'étude (I écart-type)
Figure 4.8:	Évolution de la biomasse totale calculée à partir des concentrations
	en nucléotides adényliques (ATP et ADP) (x écart-type)90
Figure 4.9:	Évolution du rapport biomasse microalgale/biomasse totale pour
	les études de 1989, 1990 et 1991
Figure 4.10:	Évolution de l'assimilation autotrophe pour les quatre années
	d'étude (
Figure 4.11:	Évolution de l'efficience photosynthétique (assimilation autotro-
	phe/biomasse microalgale) pour les études réalisées en milieu
	naturel
Figure 4.12:	Évolution nycthémérale de l'assimilation autotrophe et de
	l'efficience photosynthétique (x écart-type)
Figure 4.13:	Pourcentages d'incorporation du carbone inorganique dans les macro-
	molécules et les composés de faible poids moléculaires (CFPM) pour
	l'étude de 1989
Figure 4.14:	Pourcentages d'incorporation du carbone inorganique dans les macro-
	molécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) pour
	l'étude de 1990
Figure 4.15:	Pourcentages d'incorporation du carbone inorganique dans les macro-
	molécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) pour
	l'étude de 1991 100
Figure 4.16:	Pourcentages d'incorporation du carbone inorganique dans les macro-
	molécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) au
	cours du cycle nycthéméral

Figure 4.17:	Évolution de l'assimilation photohétérotrophe pour les quatre années
	d'étude (1989: substrat = acides aminés; 1990, 1991 et 1993: subs-
	trat = glucose) (\pm écart-type)
Figure 4.18:	Évolution de l'assimilation photohétérotrophe/biomasse totale
	(ADP+ATP) pour les quatre années d'étude (1989: substrat =
	acides aminés; 1990, 1991 et 1993: substrat = glucose)
	(
Figure 4.19:	Évolution nycthémérale de l'assimilation photohétérotrophe (subs-
	trat = glucose) (\pm écart-type)
Figure 4.20:	Évolution de l'assimilation chémohétérotrophe pour les quatre années
	d'étude (1989: substrat = acides aminés; 1990, 1991 et 1993: subs-
	trat = glucose) (\pm écart-type)
Figure 4.21:	Pourcentages d'incorporation de la radioactivité liée au substrat
	organique (acides aminés) dans les macromolécules et les composés
	de faible poids moléculaires (CFPM) (étude de 1989)
Figure 4.22:	Pourcentages d'incorporation de la radioactivité liée au substrat
	organique (glucose) dans les macromolécules et les composés de
	faible poids moléculaire (CFPM) (étude de 1990)
Figure 4.23:	Pourcentages d'incorporation de la radioactivité liée au substrat
	organique (glucose) dans les macromolécules et les composés de
	faible poids moléculaire (CFPM) (étude de 1991)115
Figure 4.24:	Pourcentages d'incorporation de la radioactivité liée au substrat
	organique (glucose) dans les macromolécules et les composés de
	faible poids moléculaire (CFPM) au cours d'un cycle nycthéméral116

Figure 4.25:	Valeurs d'assimilation photoautotrophe et photohétérotrophe pour
	des cellules de Tabellaria flocculosa et de Cymbella ventricosa
	qui ont été isolées à partir des communautés microalgales périphy-
	tiques prélevées, respectivement, en amont et en aval du rejet de
	l'effluent
Figure 4.26:	Microautoradiographie de cellules microalgales après assimilation
	photohétérotrophe. Traces émises par Cymbella ventricosa (A) et
	Cocconeis placentula (B). Absence de trace chez Tabellaria floccu-
	losa (C) et Achnanthes minutissima (D)
Figure 4.27:	Concentrations en carbone organique dissous dans les quatre
	canaux expérimentaux
Figure 4.28:	Évolution de la densité bactérienne des eaux surnageantes dans les
	quatre canaux expérimentaux
Figure 4.29:	Évolution de la densité bactérienne périphytique dans les quatre
	canaux expérimentaux
Figure 4.30:	Importance relative (compte des cellules) des différentes classes
	de microalgues et de cyanobactéries dans les quatre canaux
	expérimentaux (étude de 1990)
Figure 4.31:	Importance relative (compte des cellules) des différentes classes
	de microalgues et de cyanobactéries dans les quatre canaux
	expérimentaux (étude de 1991)
Figure 4.32:	Évolution de la diversité spécifique dans les quatre canaux expéri-
	mentaux
Figure 4.33:	Évolution de la biomasse des microalgues et des cyanobactéries
	dans les quatre canaux expérimentaux (x écart-type)
Figure 4.34:	Évolution de la biomasse périphytique totale calculée à partir des
	concentrations en nucléotides adényliques (ATP et ADP)
	(

Figure 4.35:	Évolution du rapport biomasse microalgale/biomasse périphytique
	totale dans les quatre dans les quatre canaux expérimentaux 140
Figure 4.36:	Évolution de l'assimilation photoautotrophe dans les quatre canaux
	expérimentaux (x écart-type)143
Figure 4.37:	Évolution de l'efficience photosynthétique (assimilation photoauto-
	trophe/biomasse autotrophe) pour les études réalisées dans les
	canaux expérimentaux
Figure 4.38:	Pourcentages d'incorporation du carbone inorganique dans les macro-
	molécules et dans les composés de faible poids moléculaire (CFPM)
	(étude de 1990)
Figure 4.39:	Pourcentages d'incorporation du carbone inorganique dans les macro-
	molécules et dans les composés de faible poids moléculaire (CFPM)
	(étude de 1991)
Figure 4.40:	Évolution de l'assimilation photohétérotrophe (substrat = glucose) dans
	les quatre canaux expérimentaux (x écart-type)
Figure 4.41:	Évolution de l'assimilation photohétérotrophe/biomasse totale
	(ADP+ATP) dans les quatre canaux expérimentaux (substrat
	=glucose)
Figure 4.42:	Évolution de l'assimilation chémohétérotrophe (substrat = glucose)
	dans les quatre canaux expérimentaux (1 écart-type)153
Figure 4.43:	Pourcentages d'incorporation de la radioactivité liée au substrat
	organique (glucose) dans les macromolécules et dans les composés
	de faible poids moléculaire (CFPM) (étude de 1990)155
Figure 4.44:	Pourcentages d'incorporation de la radioactivité liée au substrat
	organique (glucose) dans les macromolécules et dans les composés
	de faible poids moléculaire (CFPM) (étude de 1991)

Figure 5.1:	Représentation graphique théorique de la vitesse de prise en
	charge d'un substrat organique en fonction de sa concentration
	dans le milieu
Figure 5.2:	Évolution du rapport assimilation photoautotrophe/assimilation
	photohétérotrophe pour les études réalisées en milieu naturel
Figure 5.3:	Évolution du rapport assimilation photoautotrophe/assimilation
	photohétérotrophe pour les études réalisées dans les canaux expéri-
	mentaux

RÉSUMÉ

La présente étude examine la relation entre le mode de nutrition des microalgues périphytiques et la structure des populations et cherche à comprendre les effets des effluents de fabriques de pâtes et papiers sur les communautés microalgales périphytiques. Il s'agit de savoir si, *in situ*, la matière organique dissoute de ce type d'effluents industriels constitue un agent enrichissant modifiant la structure et le fonctionnement des communautés microalgales périphytiques.

L'objectif général de la présente étude est donc d'étudier les conséquences des activités photohétérotrophes des microalgues sur la structure et le fonctionnement des communautés de périphyton en présence d'un effluent de pâtes et papiers. Pour ce faire, nous avons estimé, d'une part, la capacité d'adaptation photosynthétique à court terme d'une communauté microalgale périphytique soumise au déversement d'un tel effluent riche en matière organique. D'autre part, nous avons évaluer dans quelle mesure les capacités photohétérotrophes confèrent un avantage compétitif à certaines espèces de microalgues et influencent la composition spécifique et la biomasse de la communauté périphytique. Finalement, nous avons comparé la performance des études de terrain et en canaux expérimentaux pour le suivi d'impact d'un effluent d'une fabrique de pâtes et papiers.

Les études ont été menées de 1989 à 1993 sur la rivière Malbaie (Clermont, Québec). Des substrats artificiels en verre ont été placés sur des supports en plexiglass maintenus à l'horizontale sous la surface de l'eau à deux stations situées, l'une en amont et l'autre en aval du point de rejet de l'effluent d'une fabrique de pâtes et papiers. De plus, deux expériences en canaux expérimentaux maintenus en conditions contrôlées en laboratoire ont été réalisées

en parallèle. Après une période de colonisation initiale d'environ deux semaines, nous avons suivi un ensemble de paramètres abiotiques et biotiques au cours d'études nycthémérale, quotidienne, hebdomadaire et saisonnière.

Les eaux de la rivière Malbaie se caractérisent, à l'image des eaux naturelles du Bouclier Canadien, par leur faible teneur en éléments nutritifs et leur faible turbidité. Par contre, les conditions prévalant à la station située dans la zone de mélange de l'effluent se sont traduites par une augmentation de la turbidité, de la conductivité et de la densité bactérienne en relation avec des concentrations plus élevées en carbone organique et inorganique dissous. Des apports importants en azote, principalement sous les formes nitrites-nitrates, et en silice ont été systématiquement observées à cette station.

Cette modification de la qualité de l'eau s'est manifestée, dans nos conditions d'expérimentation, par une diminution systématique de la diversité spécifique par rapport à la station témoin. Cette diminution était associée à des modifications de l'abondance relative des différentes classes de microalgues. Ainsi, l'abondance relative des diatomées était plus faible en présence de l'effluent avec une contribution relative demeurant tout de même supérieure à 54%. La communauté microalgale se développant dans les eaux naturelles de la rivière Malbaie était composée principalement d'espèces caractéristiques des eaux naturelles du Bouclier Canadien dont *Achnanthes minutissima* et *Tabellaria flocculosa*. Par contre, la communauté se développant en présence de l'effluent était dominée par *Cymbella ventricosa* et *Cocconeis placentula*, deux espèces de diatomée associées, d'une part, aux milieux recevant des effluents de pâtes et papiers et, d'autre part, aux milieux enrichis en matière organique et en substances phénoliques. Par ailleurs, ces espèces étaient accompagnées de la chlorophycée *Actinastrum hantzchii*, espèce fréquemment identifiée dans les milieux enrichis en matière organique. Sur un plan quantitatif, les valeurs de la biomasse microalgale et des cyanobactéries observées dans les eaux naturelles de la rivière Malbaie sont, à l'image des rivières québécoises ne drainant pas de terres agricoles, relativement faibles soit, en moyenne pour l'ensemble des prélèvements, de 2,2 (0,2 à 5,8) mg chl-a/m². En présence de l'effluent les valeurs moyennes de la biomasse microalgale étaient légèrement plus élevées (4,9; 0,8 à 17,4 mg chl-a/m²) sans toutefois être significativement différente.

Pour l'ensemble des études, la productivité primaire du périphyton de la rivière Malbaie s'est révélée relativement élevée, soit en moyenne $5,35 \pm 4,10 \text{ mg C/m^2/d}$, par rapport aux valeurs observées pour les mêmes périodes de l'année dans les eaux de plusieurs rivières du Bouclier Canadien. Malgré ces valeurs élevées, la communauté microalgale périphytique se développant dans la zone de mélange de l'effluent était caractérisée par une efficience photosynthétique au moins aussi élevée que celle notée à la station témoin. L'allocation préférentielle du carbone inorganique dans les lipides à cette même station témoigne de l'adaptation photosynthétique de cette communauté.

De plus, nos résultats ont permis d'observer que les valeurs d'activités photohétérotrophes mesurées à partir d'un mélange d'acides aminés ou de glucose, étaient systématiquement plus élevées en présence de l'effluent. Le substrat organique utilisé lors de nos expériences était principalement incorporé dans les macromolécules, en particulier dans les protéines servant ainsi à la croissance et/ou à la maintenance cellulaire. Cette observation est étayée, d'une part, par les études microautoradiographiques mettant en évidence l'absence de traces sur les cellules de la station témoin et l'observation simultanée de cellules de diatomées pratiquement toutes marquées à la station située dans la zone de mélange de l'effluent et, d'autre part, par les dénombrements des cellules marquées et non marquées des espèces isolées et provenant des deux stations à l'étude. En effet, 92% (*Cymbella ventricosa*) et 96%

(*Coconeis placentula*) des espèces dominantes de la station polluée sont marquées, alors que seulement 0% (*Achnanthes minutissima*) à 11% (*Tabellaria flocculosa*) des espèces dominantes de la station témoin le sont .

À la lumière de ces observations, nos travaux ont démontré que le déversement d'un effluent de pâtes et papiers modifie la qualité de l'eau qui se manifeste, à court terme, par un changement de la capacité photosynthétique de la composante microalgale périphytique. Cependant, l'exposition de certaines espèces de microalgues à un effluent riche en matière organique accroît leur capacité photohétérotrophe. Cette flexibilité du mode de nutrition confère un avantage compétitif à certaines espèces, qui se développent préférentiellement dans un milieu riche en carbone organique dissous. Par conséquent, la structure du périphyton et particulièrement celle de la communauté microalgale représente la résultante de la capacité d'adaptation de ces microorganismes aux perturbations du milieu.

Par ailleurs, nos travaux ont démontré que l'utilisation des canaux expérimentaux en appui aux études en milieu naturel pour étudier les réponses structurelles et fonctionnelles des communautés périphytiques aux perturbations potentielles résultant d'une exposition à un effluent industriel semble tout à fait pertinent. En effet, cette approche a permis, grâce aux divergences observées dans les canaux expérimentaux en présence et en absence d'effluent, de préciser notre compréhension des changements de la structure et du fonctionnement de la communauté périphytique se développant à la station polluée de la rivière Malbaie par rapport à la station témoin. Cependant, nos résultats ont aussi démontré que des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer l'écart acceptable entre les conditions du milieu naturel et les conditions contrôlées des canaux expérimentaux.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont, en premier lieu, au docteur Pierre Couture, Recteur à l'Université du Québec à Rimouski, qui a cru en moi en acceptant de diriger cette thèse. Cette direction n'a certainement pas été de tout repos compte tenu des charges administratives qui lui ont été confiées dès le début de mon programme de doctorat.

Ma plus profonde gratitude va au docteur Christian Amblard qui a su assurer la co-direction de ce doctorat avec un professionnalisme et un dévouement personnel hors du commun. J'aimerais, par la même occasion, remercier le docteur Gilles Bourdier et son équipe pour le développement des autoradiographes et leur aimable acceuil lors de mon passage à l'Université de Clermont-Ferrand.

Mes sentiments les plus profonds vont au docteur Peter Campbell, professeur à l'Institut de Recherche Scientifique en Eau, qui a accepté avec dévouement et rigueur scientifique qui lui sont reconnus, d'encadrer ce travail à l'intérieur de l'organisation administrative de l'Institut. Ses conseils m'ont été d'un grand soutien.

Je remercie sincèrement le docteur Dolors Planas, professeur au Département des sciences biologiques à l'Université du Québec à Montréal et le docteur Christiane Hudon, chercheur scientifique au Centre Saint-Laurent, pour leurs judicieux commentaires comme examinatrices externes de cette thèse. Un sincère merci au docteur Claude Thellen pour ses encouragements, son support scientifique et ses conseils tout au long de mon programme. À toute l'équipe de la Direction des laboratoires du Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec et principalement à Messieurs Guy Longpré, Christian Bastien, Richard Cardin et Réjean Lemire, merci pour votre disponibilité et votre générosité.

Je m'en voudrais aussi d'oublier madame Danielle Rodrigue ainsi que messieurs Michel Harvey et Christian Harvey pour leur précieuse aide technique lors des nombreux relevés sur le terrain et travaux en laboratoire. Ces gens ont démontré une grande disponibilité malgré les conditions parfois très difficiles dans lesquelles ils ont dû oeuvrer. J'aimerais particulièrement remercier Christian, compagnon d'armes et ami.

Finalement, un merci particulier à mon épouse, Nathalie, pour avoir accepté avec autant de gentillesse et de patience l'édition de ce texte et des nombreux tableaux et figures. Un merci du fond du coeur à ma famille pour sa patience et son support moral de tout instant. Les lecteurs de cette thèse comprendrons toute la signification de ce merci.

Ce travail de recherche fut réalisé grâce à l'appui financier du Programme d'Aide à la Recherche et au Développement du Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec, du Fond Canadien d'Aide à la Recherche et d'une bourse d'études Cascades-Environnement Canada du programme Plan Vert du gouvernement canadien.

CHAPITRE I INTRODUCTION

Dans les écosystèmes aquatiques, l'importance des communautés périphytiques est largement reconnue (Collins et Cornelius, 1978; Clark *et al.*, 1979; Rodgers *et al.*, 1979; Wetzel, 1983; Cattaneo, 1987). Le périphyton constitue un système fonctionnel où se déroulent des processus autotrophes et hétérotrophes. Il joue le rôle d'interface entre le substrat et l'eau environnante. Cette communauté peut donc influer sur les voies biogéochimiques et sur la dynamique de l'ensemble de l'écosystème.

La structure des communautés aquatiques résulte de l'action combinée de facteurs extrinsèques (agents physiques, chimiques et biologiques) et intrinsèques (adaptation, acclimatation, tolérance) sur les populations qui la composent. Par conséquent, la structure de la communauté périphytique reflète la capacité compétitive des espèces qui la composent et fournit une source d'informations intégrées pouvant servir d'indicateur sensible de la qualité du milieu aquatique (Weitzel, 1979; Wetzel, 1983).

Cependant, la connaissance des mécanismes qui soutiennent les capacités compétitives des espèces microalgales est limitée par la compréhension que nous avons des mécanismes physiologiques impliqués dans le phénomène de tolérance. Ainsi, bien qu'il soit reconnu que la fixation photoautotrophe du carbone inorganique est nettement dominant dans le flux du carbone, la composante microalgale du périphyton ne peut plus être considérée seulement comme une communauté strictement autotrophe du point de vue de ses exigences en carbone et en énergie. En effet, de nombreuses études réalisées en culture puis en milieu naturel ont démontré que des espèces microalgales sont capables d'assimiler directement le carbone organique dissous (Danforth, 1962; Droop, 1974; Neilson et Lewin, 1974; Hellebust et Lewin, 1977; Raven, 1980; Bourdier *et al.*, 1989; Amblard *et al.*, 1990; Martinez et Orus,

1991; Cohen et Post, 1993). La voie hétérotrophe, dont plus particulièrement la voie photohétérotrophe c'est-à-dire la capacité d'assimiler le carbone organique en présence de lumière, représente donc une possibilité supplémentaire d'incorporation du carbone susceptible de jouer un rôle déterminant dans la survie des espèces, dans les interactions compétitives et dans la succession saisonnière des populations en milieu naturel.

Le rôle écologique des capacités photohétérotrophes microalgales dans la dynamique des populations en milieu naturel ou perturbé reste, cependant, à préciser. L'originalité de ce travail est donc de considérer la capacité photohétérotrophe microalgale comme un mécanisme d'adaptation issu de la flexibilité fonctionnelle de ces microorganismes, et ce, dans des conditions où les potentialités photohétérotrophes des microalgues sont susceptibles de s'exprimer plus fortement, c'est-à-dire dans des milieux présentant des conditions défavorables à l'assimilation photosynthétique et riches en matière organique dissoute. Dans les écosystèmes aquatiques, ces conditions sont rencontrées, entre autres, au niveau des rejets industriels turbides et riches en matières organiques tels que les effluents de fabriques de pâtes et papiers. On aborde ainsi l'étude des répercussions du déversement des effluents sous un angle nouveau en couplant à l'observation des modifications sur la structure des populations, une description des mécanismes pouvant expliquer ces modifications au niveau du fonctionnement des populations.

L'objectif général du présent travail est d'étudier les conséquences des activités photohétérotrophes des microalgues périphytiques sur la structure et le fonctionnement des communautés de périphyton en présence d'un effluent riche en matière organique. En considérant le rôle des capacités photohétérotrophes microalgales dans la dynamique des communautés périphytiques, nous comptons préciser l'impact du déversement d'effluents en milieu lotique par une approche qui, non seulement permet de poser un diagnostic sur l'influence mais qui, également, propose des éléments d'explication à l'expression de la nouvelle structure. Dans ce contexte, nos objectifs spécifiques sont :

- estimer la capacité d'adaptation photosynthétique à court terme d'une communauté microalgale périphytique soumise au déversement d'un effluent d'une fabrique de pâtes et papiers;
- évaluer dans quelle mesure le changement de sources énergétiques correspond à une réponse adaptative de la communauté microalgale périphytique au déversement d'un effluent riche en carbone organique dissous;
- mesurer les conséquences des capacités photohétérotrophes des microalgues sur la composition spécifique et la biomasse de la communauté périphytique;
- vérifier dans quelle mesure l'avantage compétitif est conféré par les capacités photohétérotrophes;
- comparer la performance des études de terrain et en canaux expérimentaux pour le suivi d'impact d'un effluent de pâtes et papier chargé en carbone organique dissous.

Pour atteindre ces objectifs nous avons posé les hypothèses suivantes:

 le déversement d'un effluent de pâtes et papiers modifie la qualité de l'eau du milieu récepteur et provoque un changement de la capacité photosynthétique de la communauté microalgale périphytique;

- la capacité photohétérotrophe des microalgues est accrue par l'exposition à un effluent riche en matière organique;
- les espèces de microalgues périphytiques possédant un potentiel photohétérotrophe sont favorisées par la présence d'un effluent riche en carbone organique dissous;
- 4. le substrat organique assimilé par photohétérotrophie est utilisé pour la croissance et/ou la maintenance cellulaire;
- l'adéquation entre les réponses fonctionnelles des communautés périphytiques se développant en conditions contrôlées et celles des communautés croissant en milieu naturel est, en général, meilleure que celle observée pour les réponses structurelles.

Le présent travail représente donc un compromis entre, d'une part, une préoccupation de recherche fondamentale dont l'objet principal est l'étude des stratégies adaptatives liées à la flexibilité des modes de nutrition des microalgues et, d'autre part, une préoccupation appliquée qui consiste à mieux diagnostiquer et à mieux comprendre les effets des effluents de pâtes et papiers sur les communautés microalgales. Il s'agit de préciser l'importance de la matière organique dissoute des effluents industriels comme source énergétique pour les communautés microalgales, source susceptible de modifier la structure et le fonctionnement de ces peuplements qui représentent la base trophique des écosystèmes aquatiques.

CHAPITRE II

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

2.1 L'HÉTÉROTROPHIE MICROALGALE

Le terme général «hétérotrophie» est défini comme l'utilisation de composés organiques pour la croissance et/ou la maintenance cellulaire. Plus spécifiquement, la chémohétérotrophie est la capacité de croître et de se diviser à l'obscurité en utilisant comme source d'énergie et de carbone un ou plusieurs substrats organiques alors que la photohétérotrophie est la capacité d'incorporer certains composés organiques dans le matériel cellulaire en présence de lumière (Nielson et Lewin, 1974; Rivkin et Putt, 1987). Pour certaines espèces de microalgues, il est maintenant reconnu que le carbone cellulaire peut provenir, en partie, du carbone organique, soit sous forme dissoute par osmotrophie (Danforth, 1962; Droop, 1974; Neilson et Lewin, 1974; Bourdier *et al.*, 1989; Martinez et Orus, 1991; Cohen et Post, 1993), soit sous forme particulaire par phagotrophie (Bird et Kalff, 1986).

2.1.1 Observations faites en laboratoire

En culture, il a été démontré que les microalgues peuvent croître sur une grande variété de substrats organiques. Cependant, il existe des variations considérables de la capacité et de la vitesse auxquelles peuvent croître les espèces microalgales sur un substrat organique donné (Kessler, 1982). En effet, quelques espèces peuvent utiliser efficacement un composé organique particulier et se multiplier à l'obscurité aussi rapidement que par voie photoauto-trophe tandis que d'autres ne peuvent que difficilement croître en absence de lumière (Ingram *et al.*, 1973; Nielson et Lewin, 1974; Barnum et Gendel, 1987; Amblard et Couture, 1990).

Ces différences interspécifiques sont explicables dans la mesure où la croissance par voie hétérotrophe nécessite un système de transport membranaire des composés organiques aux concentrations ambiantes et un équipement physiologique et, notamment, enzymatique, indispensable à l'utilisation de ces substrats (Vincent et Goldman, 1980). Selon Wetzel (1983), seuls les substrats qui sont facilement métabolisables en glucose 6-phosphate peuvent supporter une croissance effective des organismes à l'obscurité. Ainsi, les organismes photo-autotrophes obligés seraient déficients en glucose perméase (Wetzel, 1967). Par ailleurs, selon Kornberg (1973), le transport trans-membranaire peut se faire, soit par simple diffusion passive, soit par transport actif contre un gradient de concentrations à travers la membrane ou bien encore par groupe de translocation c'est-à-dire par absorption après modifications du substrat par des enzymes membranaires.

Cependant, la simple diffusion passive des carbohydrates est faible en raison de leur taille et de leur faible liposolubilité (Droop, 1974). Ainsi, le glucose serait assimilé après transport actif vers l'intérieur de la cellule (Komor et al., 1988; Tanner et Gauer, 1989) et serait entreposé dans l'amidon ou servirait directement à la croissance cellulaire (Cohen et Post, 1993). L'assimilation photohétérotrophe et le métabolisme du glucose impliqueraient donc l'existence d'un système de transport actif pour la prise de glucose avec une synthèse d'ATP à la lumière et des photophosphorylations cycliques (Pelroy et al., 1972; Ohki et Katoh, 1975; McKinley, 1977). Le métabolisme du glucose, mais pas nécessairement son assimilation, serait contrôlé par les produits du photosystème II et du Cycle de Calvin (Pearces et Carr, 1969). Ce système impliquerait des pigments qui absorbent la lumière dans le bleu, c'est-à-dire une catégorie de longueurs d'ondes prédominantes en profondeur dans les systèmes aquatiques naturels où les niveaux d'intensité lumineuse sont souvent inférieurs à ceux nécessaires à une fixation efficace du CO2 (Ohki et Katoh, 1975; Barnum et Gendel, 1987). Ce même processus serait utilisé pour l'assimilation de certains composés tels que le fructose, la galactose et quelques disaccharides (Stanier, 1973; Ohki et Katoh, 1975; Amblard et al., 1990).

Le transport et le métabolisme de l'acétate, du glycolate et des acides aminés en général, ont fait l'objet d'une investigation moins soutenue. Selon Vincent et Goldman (1980), les principaux enzymes responsables de l'assimilation de l'acétate sont deux enzymes inductibles du cycle du glycoxylate soient la malate synthétase et l'isocitrate lyase. Certaines espèces convertiraient l'acétate en CO_2 avant utilisation (Droop, 1974). Par ailleurs, les travaux de Feuillade et Krupka (1986) ont démontré une sélectivité marquée dans l'assimilation des composés organiques et en particulier des acides aminés. Les communautés naturelles de microalgues présentent rarement un taux d'assimilation élevé pour un seul acide aminé, mais plutôt des taux d'assimilation plus faibles pour de nombreux acides aminés (Flynn et Butler, 1986).

2.1.2 Observations faites en milieu naturel

Les concentrations en carbone organique dissous total en milieu aquatique varient considérablement en fonction de la quantité d'apports allochtones, de la productivité végétale, de la minéralisation et de l'activité métabolique des communautés de l'écosystème (Bollman et Robinson, 1985). Cependant, on estime que ces valeurs fluctuent, généralement, entre 1 et 15 mg C/L (Storch et Saunders, 1978; Riemann *et al.*, 1982).

Ces concentrations, relativement faibles, et la difficulté d'établir les parts respectives des activités bactériennes et microalgales, ont longtemps mené de nombreux auteurs à la conclusion que l'hétérotrophie microalgale était un artéfact de laboratoire dû probablement à l'utilisation de cultures axéniques et de grandes concentrations de substrats organiques. Dans cette optique, les auteurs considéraient que les microalgues n'étaient probablement pas compétitives par rapport aux bactéries pour l'assimilation du carbone organique en milieu naturel (Munro et Brock, 1968; Lewin et Hellebust, 1976). En effet, certaines études de

cinétique de transport menées en laboratoire semblèrent démontrer que les microalgues possédaient des systèmes de transport de faible affinité pour les substrats organiques aux concentrations naturelles comparativement aux bactéries dont l'affinité des systèmes de transport pour les mêmes substrats était nettement plus élevée (Sepers, 1977; Seki *et al.*, 1980).

Cependant, plusieurs études rapportent la présence d'activités hétérotrophes chez les microalgues en milieu naturel (Saunders, 1972; McKinley, 1977; McKinley et Wetzel, 1977; Ellis et Stanford, 1982; Moll, 1984; Bourdier *et al.*, 1989; Amblard *et al.*, 1992). Des recherches plus récentes en milieu naturel ont révélé que, sous certaines conditions (e.g. limitation en énergie lumineuse), des espèces de microalgues pouvaient transporter des substrats organiques à une vitesse qui les rendaient compétitives par rapport aux bactéries (Ellis et Stanford, 1982; Moll, 1984; Bollman et Robinson, 1985; Feuillade et Krupka, 1986; Bourdier *et al.*, 1989). Dans ce sens, Darley *et al.* (1979) notèrent que la communauté des diatomées benthiques, capable de croissance hétérotrophe, incorporait au moins 1% du carbone organique total disponible dans le milieu. De plus, selon Haffner *et al.* (1988), l'importance de l'activité hétérotrophe de la communauté phytoplanctonique du lac Ontario représente environ 2% de l'activité photoautotrophe.

Ces processus hétérotrophes pourraient donc conférer aux microalgues une capacité supplémentaire de survie et leur procurer un avantage pouvant être déterminant dans les interactions compétitives (McKinley, 1977; Ellis et Stanford, 1982; Wetzel, 1983; Amblard *et al.*, 1990). Ainsi, McKinley et Wetzel (1977) ont conclu que les phénomènes de photo-hétérotrophie peuvent représenter jusqu'à 20% de la fixation totale du carbone inorganique par les communautés phytoplanctoniques dans certains lacs oligotrophes à de faibles irradiations lumineuses. De plus, plusieurs auteurs reconnaissent l'importance potentielle de

l'hétérotrophie microalgale pour la survie du phytoplancton dans la zone aphotique lacustre ou pour des conditions de faibles irradiations lumineuses (Tilzer *et al.*, 1977; Vincent, 1978; Vincent et Goldman, 1980), capacité qui maximalise la probabilité d'une réintroduction de cellules viables dans la zone photique par le brassage des eaux. La même explication est avancée pour la survie des espèces sous la glace (Rivkin et Putt, 1987; Wallen, 1990). Bref, bien que ces études tendent à démontrer que, généralement, la fixation photoautotrophe du carbone inorganique est nettement dominante dans le flux du carbone par rapport aux processus hétérotrophes chez les microalgues, les microalgues ont la capacité d'utiliser des substrats organiques spécifiques et de réguler leur transport en réponse aux variables environnementales.

Il demeure, cependant, difficile d'établir la part respective des activités hétérotrophes microalgales et bactériennes dans les résultats obtenus, compte-tenu des limites des techniques proposées. Certains auteurs ont expérimenté le fractionnement par filtration différentielle en fonction de la taille (Sheldon et Stucliffe, 1969; Sheldon, 1972; Hoppe, 1976), alors que d'autres ont utilisé des substances antibiotiques ou une combinaison des deux approches (Berman, 1975; Newell et al., 1983; Furhman et McMannus, 1984; Rachig et al., 1991). Enfin, quelques études ont proposé l'autoradiographie pour démontrer les capacités de certaines microalgues à être compétitives pour l'assimilation des composés organiques aux concentrations notées en milieu naturel (Saunders, 1972; Feuillade et al., 1988; Amblard et al., 1990). Cependant, la présence de bactéries fixées sur des particules de grande taille d'une part, et, d'autre part, la faible efficacité des substances «inhibitrices» sélectives contribuent à maintenir l'ambiguïté face à l'importance relative de l'activité hétérotrophe pour les communautés microalgales et bactériennes en milieu naturel. Ainsi par exemple, Rachiq et al.(1991) ont montré que la gentamycine, considérée comme un inhibiteur bactérien, n'inhibe pas complètement l'activité bactérienne et modife l'allocation des marqueurs radioactifs dans les macromolécules.

De plus, il est important de mentionner l'ambiguïté de certains résultats liée au fait que l'absorption d'un substrat organique n'implique pas obligatoirement son assimilation pour la croissance ou le maintien cellulaire (Amblard et Couture, 1990; Amblard *et al.*, 1990). En effet, plusieurs espèces microalgales, qui possèdent les enzymes nécessaires au transport des composés organiques à travers les membranes cellulaires, sont incapables d'utiliser ces substrats en raison d'une incapacité à coupler leur dégradation à la synthèse d'ATP (Wetzel, 1983). Les molécules organiques peuvent également entrer dans la cellule mais supporter seulement la synthèse d'une fraction très limitée de composés biochimiques (Kornberg et Elsden, 1961) ou ne pas être métabolisées du tout (Palmer et Togasaki, 1971). De plus, la croissance à court terme à l'obscurité ne lève pas cette ambiguïté car les cellules peuvent utiliser des produits carbonés de réserve plutôt que les assimilations récentes de composés organiques pour maintenir un taux maximal de division pendant au moins deux générations (Rivkin *et al.*, 1984; Rivkin et Putt, 1987).

Aussi, Rivkin et Putt (1987) proposèrent de mesurer l'incorporation de composés organiques marqués dans les polymères complexes (protéines, polysaccharides, lipides) afin de savoir dans quelle mesure les substrats organiques absorbés sont utilisés pour la croissance. Ces auteurs ont montré, à partir de diatomées isolées des eaux de l'Antarctique, que ces microalgues assimilent différents acides aminés et le glucose à la lumière et à l'obscurité. Les acides aminés sont incorporés dans les protéines, mais également dans d'autres polymères complexes, après désamination, en servant de métabolites intermédiaires dans le cycle tricarboxylique pour les synthèses de carbohydrates et de lipides (Bonner et Varner, 1976; Kirchman *et al.*, 1985). De plus, les taux d'assimilation et les taux de synthèse des polymères sont semblables à ceux obtenus lors de l'incorporation de carbone inorganique par photosynthèse à lumière saturante. Dans ce sens, Lewin et Hellebust (1975, 1978) ont trouvé une efficacité d'assimilation par hétérotrophie des composés organiques dissous pour les

diatomées pennées marines *Navicula pavillardi* et *Nitzschia taevis* de 41% et 45% respectivement. Finalement, mentionnons les travaux de Bourdier *et al.* (1989) qui ont permis, par microautoradiographie, de démontrer, chez une population naturelle de l'espèce *Oscillatoria rubescens*, la capacité d'utiliser des acides aminés provenant du milieu pour la synthèse protéique.

En résumé, les capacités hétérotrophes microalgales ont été démontrées en laboratoire puis en milieu naturel. Cependant, les implications écologiques de ce potentiel hétérotrophe, notamment pour les communautés microalgales soumises à des apports importants en composés organiques, sont encore largement inconnues.

2.2 LE PÉRIPHYTON

Introduit en 1928 par Behning, le terme *périphyton* est généralement défini comme une microcommunauté complexe et hétérogène se développant sur un substrat immergé naturel ou artificiel (Weitzel, 1979; Wetzel 1983), substrat qui peut être organique ou inorganique, vivant ou mort. Le périphyton peut inclure à la fois des bactéries, des levures, des champignons, des protozoaires, des microalgues et des petits invertébrés (Wetzel, 1983). Quelques auteurs tendent à associer, à cette définition, le terme *Aufwuchs* alors que l'utilisation du terme *périphyton* est réservée à la communauté microalgale (Aloi, 1990). Ainsi, une distinction sera faite entre épilithon en se référant au périphyton se développant sur un substrat rocheux, épipélon pour des substrats de sable fin ou argileux, épipsammon sur des substrats sablonneux ou bien encore épiphyton pour la partie immergée des macrophytes aquatiques (Aloi, 1990). Dans le présent document, le terme périphyton est utilisé dans son sens le plus large, c'est-à-dire tel que défini originalement par Behning.

Le périphyton, et notamment sa composante microalgale, est à la fois un producteur primaire important en rivière ou dans la zone littorale des lacs (Cattaneo et Kalff, 1980) et une source de nourriture pour les invertébrés (Soszka, 1975). Plus généralement, cette communauté représente un système fonctionnel où se déroulent des processus autotrophes et hétérotrophes (production primaire, décomposition, recyclage d'éléments nutritifs), et elle joue le rôle d'interface entre le substrat et l'eau environnante. En ce sens, le périphyton peut influer sur les voies biogéochimiques et sur la dynamique de l'ensemble de l'écosystème (Wetzel, 1983).

2.2.1 Principaux facteurs de développement du périphyton

Le développement du périphyton est naturellement sous la dépendance de nombreux facteurs. Parmi les plus importants il faut citer l'éclairement, la disponibilité en éléments nutritifs, les mouvements d'eau, la nature du substrat et l'importance du broutage (Weitzel, 1979; Roos, 1983).

La lumière

L'influence de la lumière sur le développement du périphyton est, sans aucun doute, importante. Elle n'est cependant pas indispensable puisque les organismes présentant un métabolisme hétérotrophe, dont certaines espèces de microalgues (Hellebust et Lewin, 1977), peuvent croître en son absence. Cependant, selon McIntire (1973), c'est bien la présence de végétation terrestre réduisant la pénétration de l'énergie lumineuse, qui explique la faible biomasse périphytique dans les petits ruisseaux. De la même façon, de nombreux auteurs trouvent un lien direct entre la production primaire et l'irradiation lumineuse atteignant le périphyton (Gregory, 1980; Triska *et al.*, 1983; Duncan et Brunsven, 1985; Amblard et Couture, 1990). L'énergie lumineuse décroissante avec la profondeur induit également une

zonation verticale (Evans et Stockner, 1972) et agit sur la structure de la communauté microalgale (Antoine et Benson-Evans, 1983; Sheath et Burkholder, 1985; Lowe *et al.*, 1986). Ainsi, à forte intensité lumineuse, les cyanobactéries semblent posséder un avantage compétitif (Weitzel, 1979). Les chlorophycées filamenteuses sont également favorisées par les fortes irradiations lumineuses (Lyford et Gregory, 1975; Shortreed et Stockner, 1983; Steinman et McIntire, 1987) et limitées sous conditions de faibles luminosités car elles ont une diversité pigmentaire inférieure aux autres classes de microalgues (Lowe *et al.*, 1986). Les diatomées présentent des variations interspécifiques importantes. Ainsi, par exemple, le développement d'*Achnanthes lanceolata* est favorisé par de faibles éclairements (Hudon et Bourget, 1981) alors que *Synedra ulna* (Steinman et McIntire, 1986) et différentes espèces de *Nitzchia* (Antoine et Benson-Evans, 1983) paraissent peu sensibles à ce facteur.

Les études menées en laboratoire dans des canaux expérimentaux aboutissent à des conclusions similaires. Le développement du périphyton est directement lié à l'intensité lumineuse (Steinman et McIntire, 1987). Plus précisément, selon Jasper et Bothwell (1986), le périphyton subit une saturation lumineuse pour des irradiations représentant 10 à 20% de l'énergie solaire incidente, c'est-à-dire pour des valeurs de l'ordre de 200 à 400 μ E/m/s. Par ailleurs, les variations d'intensité lumineuse entraînent également des changements dans la composition spécifique du périphyton (Steinman et McIntire, 1986, 1987), l'abondance relative des chlorophycées par rapport aux diatomées étant plus importante aux fortes irradiations.

Les éléments nutritifs

Pour la fraction autotrophe du périphyton et en particulier les diatomées, les principaux éléments nutritifs limitants sont essentiellement l'azote, le phosphore et la silice. De la même

façon que pour le phytoplancton, la croissance du périphyton peut servir à définir les facteurs nutritifs limitants (Wuhrmann et Eichenberger, 1975; Stockner et Shortreed, 1978; Marcus, 1980; Peterson *et al.*, 1983; Fairchild *et al.*, 1985). Généralement, l'enrichissement en azote et en phosphore se traduit par une hausse marquée de la biomasse périphytique (Marcus, 1980; Perrin *et al.*, 1987; Fairchild et Everett, 1988; Amblard et Couture, 1990), notamment lors de l'apport de phosphore réactif soluble (Horner *et al.*, 1983), ou d'orthophosphates (Horner et Welch, 1981, Krewer et Holm, 1982). Cattaneo (1987) rapporte cependant, qu'en milieu lacustre, seul le développement des microalgues vertes filamenteuses de grande taille, semble correlé avec l'apport en phosphore. Par ailleurs, Pringle (1987) a mis en évidence une consommation de luxe de phosphore au début de la phase de colonisation et conclut que le périphyton peut jouer le rôle de piège pour le phosphore relargué par le substrat. Rappelons également que grâce à l'activité de la phosphatase alcaline, certaines espèces microalgales sont susceptibles d'utiliser le phosphore organique (Healey, 1973). En ce qui concerne l'azote, bien que les microalgues soient capables de l'assimiler sous forme organique ou inorganique, il semble que l'ammoniaque soit préférentiellement utilisé (Keeney, 1973).

L'apport d'éléments nutritifs est également susceptible d'entraîner des changements dans la composition spécifique du périphyton (Schelske et Stoermer, 1971; Moss, 1976; Jones et Mayer, 1983). Ainsi, les apports en azote et en phosphore favorisent le développement des microalgues vertes filamenteuses telles que *Stigeoclonium tenue* (Fairchild *et al.*, 1985) ou *Cladophora* et *Ulothrix* (Martin *et al.*, 1983). L'eutrophisation par apport de phosphore peut se traduire par une augmentation de la diversité spécifique de la communauté microalgale (Marcus, 1980), mais, il semble que si l'enrichissement dépasse les conditions optimales de développement, on observe alors une baisse de la diversité spécifique (Odum, 1975; Marcus, 1980). En revanche, cet effet eutrophisant se traduit par une proportion relative plus importante des espèces microalgales de grande taille (Cattaneo, 1987), conformément à ce
qui est observé au niveau du phytoplancton (Watson et Kalff, 1981). Les recherches tendent à démontrer que la demande en azote inorganique par rapport au phosphore serait plus élevée lorsque le quotient N:P est faible (Redfield, 1958; Rhee, 1978; Stockner et Shortreed, 1978; Gregory, 1980). Ainsi, selon Stockner et Shortreed (1978), une modification du rapport N:P amènerait un changement de la communauté.

Parallèlement à ces éléments nutritifs majeurs, de nombreuses substances dissoutes sont susceptibles de jouer un rôle important dans le développement du périphyton (Wetzel, 1983). Ainsi, selon Patrick (1948), les diatomées sont plus abondantes dans les eaux riches en carbonate de calcium (\geq 3 mg/L) et en silice. Généralement, les faibles concentrations en métaux traces (vanadium, chrome, bore, nickel) sont favorables aux diatomées, alors que les plus fortes concentrations sont mieux tolérées par les cyanobactéries ou les microalgues vertes filamenteuses (Patrick *et al.*, 1975). Enfin, il faut signaler que les variables chimiques mesurées généralement dans l'eau surnageante ne sont pas obligatoirement représentatives des conditions régnant à l'intérieur de la couche périphytique (Sand-Jensen, 1983).

Les mouvements d'eau

La vitesse des courants, l'action des vagues et les mouvements de turbulence sont potentiellement capables d'affecter la croissance des organismes périphytiques. Selon la force et la direction de ces mouvements d'eau, les effets peuvent être stimulants ou inhibiteurs (Weitzel, 1979). Jusqu'à des valeurs de l'ordre de 50 à 60 cm/s, il apparaît que la croissance du périphyton est favorisée par l'élévation de la vitesse du courant (Ball *et al.*, 1969; Horner et Welch, 1981). Pour des vitesses supérieures, l'effet inverse est généralement observé. Plus précisément, selon McIntire (1966) et Steinman et McIntire (1986), le taux initial de colonisation est relié à la vitesse du courant. La biomasse périphytique, notamment les

diatomées, s'accumule plus rapidement sur les substrats artificiels pour de faibles vitesses de courant pendant les premiers jours. Par la suite, c'est l'effet inverse qui est enregistré. Ces différentes observations ont amené ces auteurs à considérer que les courants rapides inhibent la colonisation initiale. Une fois cette dernière établie, la croissance du périphyton augmente avec la vitesse du courant qui favorise alors les échanges d'éléments nutritifs et de gaz dissous entre les cellules et le milieu liquide environnant (Reiter et Carlson, 1986; Steinman et McIntire, 1986). Plus précisément, selon Whitford (1960), les vitesses de courant assez élevées (> 15 cm/s) réduisent la zone de déplétion qui peut s'installer autour des cellules et diminuent ainsi les effets limitants. Ces phénomènes sont également avancés pour expliquer la plus forte productivité benthique des rivières par rapport aux lacs (Nelson et Scott, 1962; Duffer et Dorris, 1966; Weitzel, 1979).

La vitesse du courant influe également sur la nature des espèces présentes et sur la structure des communautés (Marker, 1976; Horner et Welch, 1981; Reiter et Carlson, 1986). Selon Traaen et Lindstrom (1983), certaines espèces ont en rivière une niche bien définie correspondant à une vitesse de courant précise, alors que d'autres espèces présentent des spectres beaucoup plus larges. Généralement, les fortes vitesses inhibent le développement du périphyton à l'exception des espèces filamenteuses (Weitzel, 1979), cet effet négatif étant plus sévère pour les espèces se développant sur les petites pierres. Enfin, il existe une succession autogénique des espèces périphytiques dans la mesure où les premières espèces attachées créent des remous et secrètent des substances mucilagineuses qui facilitent l'attachement d'autres espèces (Roemer *et al.*, 1984; Stevenson, 1984).

La nature du substrat

La nature du substrat est également susceptible d'influer sur le développement du périphyton. Ainsi, généralement, la production primaire (Duffer et Dorris, 1966) et les concentrations en chlorophylle-*a* (McConnel et Sligler, 1959) sont plus élevées sur les grands rochers granitiques que sur les petites pierres. De la même façon, Nelson et Scott (1962) et Neel (1968 *in* Weitzel 1979) observent très peu de périphyton sur les fonds sableux instables. Par ailleurs, selon Hynes (1970), le développement des microalgues épiphytes dépend également de l'âge, de la forme et de la texture des macrophytes, et il a été montré qu'un changement de composition des chlorophycées peut affecter la nature et le fonctionnement des espèces de diatomées épiphytes (Casterlin et Reynolds, 1977; Ross *et al.*, 1981; Roos, 1983). Enfin, les auteurs divergent quant à l'importance des relations entre le périphyton et son substrat. Ainsi, Wetzel (1983) accorde beaucoup d'importance aux interrelations dynamiques et métaboliques entre les microalgues et leur substrat, alors que selon Cattaneo et Kalff (1978) et Gough et Gough (1981 *in* Wetzel 1983), la croissance et la productivité du périphyton sont sensiblement identiques sur substrats naturels et sur substrats inertes (verre ou plastique).

Les effets du broutage

Les effets potentiels de la faune aquatique sur la structure et la biomasse périphytiques sont connus depuis longtemps (Brook, 1955; Douglas, 1958). Plusieurs études ont montré que les animaux aquatiques brouteurs influençaient de façon importante la production et la dynamique du périphyton de rivière (Lamberti et Moore, 1984; Feminella *et al.*, 1989; Amblard et Couture, 1990). Les brouteurs peuvent diminuer la biomasse (Power et Matthews, 1983; McAuliffe, 1984; Jacoby, 1987), altérer la productivité primaire (Gregory, 1980, Power, 1984; Lamberti et Resh, 1985) et influencer la composition spécifique des

communautés (Hart, 1981; Power *et al.*, 1985; Lamberti *et al.*, 1987; Steinman *et al.*, 1987). À l'intérieur d'un système lotique, la pression prédatrice des brouteurs varient spatialement et temporellement (Power, 1984; Lamberti et Resh, 1985). Elle serait négligeable au premier stade de développement de la communauté (APHA *et al.*, 1985; Feminella *et al.*, 1989).

De nombreux autres facteurs sont invoqués, de façon plus accessoire, dans le contrôle du développement des communautés périphytiques (Weitzel, 1979) parmi lesquels figurent les interactions allélopathiques et différentes caractéristiques physico-chimiques de l'eau surnageante (turbidité, pH, alcalinité, dureté, température, oxygène dissous, diverses substances dissoutes...).

2.2.2 Stades de développement du périphyton

Tous ces facteurs influencent à divers degrés le développement du périphyton. Cependant, selon Roos (1983), les communautés périphytiques suivent plus ou moins régulièrement une série prévisible de différents stades après la colonisation initiale, série qui peut aboutir à une situation climacique. Ces différentes étapes rappellent les séquences successionnelles observées pour les écosystèmes terrestres (Hudon et Bourget, 1981; Hoagland *et al.*, 1982; Korte et Blinn, 1983; Steinman et McIntire, 1986; Amblard et Couture, 1990).

Généralement, deux stades successifs sont assez bien délimités: une phase de colonisation initiale et une phase de saturation (Sand-Jensen, 1983). La phase initiale de colonisation est caractérisée par une rapide élévation de la biomasse périphytique, essentiellement liée au développement de bactéries et de microalgues à forts taux de croissance. Le début de cette colonisation initiale serait due aux bactéries dont le développement entraîne la formation d'une couche polysaccharidique nécessaire à la fixation d'autres microorganismes (Baier, 1972; Hudon et Bourget, 1981; Hoagland *et al.*, 1982). Cependant, pour Paul *et al.* (1977) la présence de bactéries ne serait pas indispensable à la colonisation des diatomées. À ce stade, les organismes présentant des temps de génération élevés sont absents et les pertes par broutage sont souvent négligeables. Les pertes mécaniques par détachement sont faibles et la mince couche périphytique présente une structure biologique relativement simple. En raison de la faible accumulation d'organismes morts et de matériel organique, les échanges avec l'eau surnageante sont importants et il est alors possible d'obtenir de bonnes corrélations entre les caractéristiques physico-chimiques de l'eau et le développement du périphyton (Sand-Jensen, 1983).

Au cours de la phase de saturation, la couche périphytique s'épaissit et la structure de la communauté devient complexe. Il y a, en effet, accumulation de cellules mortes ou sénescentes, et de matières organique et minérale. L'impact des organismes brouteurs et les pertes mécaniques par détachement sont alors significatifs. Les processus internes de recyclage deviennent plus importants que les échanges avec l'eau qui sont réduits par l'épaississement de la couche périphytique (Roos, 1983; Sand-Jensen, 1983). En conséquence, il est alors beaucoup plus difficile d'établir des relations entre les variables physico-chimiques de l'eau et le développement du périphyton. Une complexification semblable de la structure des communautés périphytiques est également observée après colonisation de substrats artificiels neufs (Eichenberger, 1975; McIntire, 1975; Amblard *et al.*, 1990).

Pour Smith (1976), cette évolution correspond au remplacement d'espèces colonisatrices avec un taux de croissance élevé par des espèces plus efficientes dans l'acquisition et l'utilisation des ressources. Au niveau de la communauté microalgale, Steinman et McIntire (1986) décrivent l'apparition successive de diatomées de petite taille, puis de diatomées plus grandes et orientées verticalement, et enfin de microalgues filamenteuses (chlorophycées) et de cyanobactéries plus longues. Comme le signale Cattaneo (1987), nous retrouvons là un principe de la théorie générale des successions écologiques (Odum, 1969), à savoir l'augmentation de la taille moyenne des organismes au cours de la succession. Cependant, cette succession autogénique, qui correspond à une évolution directionnelle et prévisible, est vulnérable aux perturbations stochastiques de l'environnement (Steinman et McIntire, 1986). Ainsi, Weber et McFarland (1981) ne retrouvent pas cette succession d'espèces et, notamment, le remplacement des diatomées par des microalgues filamenteuses.

2.2.3 Le périphyton et la qualité de l'eau

Les investigations bibliographiques sur les écosystèmes aquatiques montrent un nombre important d'études axées sur le périphyton. Ainsi, la communauté périphytique est prise en compte dans les études de productivité globale d'un écosystème (Cushing et Wolf, 1984), au niveau des interactions dans la chaîne alimentaire (Elwood et Nelson, 1972; Cuker, 1983) et, en raison de sa fixation, dans des études d'évaluation de la qualité de l'eau (Chessman, 1985; Amblard et Couture, 1990, Clements et Kiffney, 1993, Cattaneo *et al.*, 1995) ou encore l'étude des flux biogéochimiques (Goldman et De Amezaga, 1975; Lowe *et al.*, 1986; Amblard *et al.*, 1990; LaPerriere *et al.*, 1994).

Pour l'étude de perturbations environnementales le périphyton présente plusieurs avantages (Marcus, 1980; Round, 1991). Étant fixé, il est relativement facile à échantillonner et intègre les effets des variables de l'environnement. De plus, il montre un temps de réponse court aux perturbations qui peuvent provoquer des modifications de la structure et du fonctionnement de ces communautés. Par ailleurs, même lors de perturbations très sévères, le périphyton ne disparaît jamais complètement (Rodgers *et al.*, 1979).

Les recherches liées à l'utilisation du périphyton comme indicateur de la qualité de l'eau peuvent être regroupées en trois approches principales.

La première consiste à utiliser la nature et l'abondance d'organismes indicateurs (Patrick, 1949, 1978; Cholnoky, 1958; Patrick et Reimer, 1966; Lowe, 1974; Lange-Bertalot, 1979). Ainsi, les premières études établissant un «système de saprobie» décrit par Kolkwitz et Marsson (1967) remontent aussi loin qu'à la fin du siècle dernier (Sladecek, 1973). Il apparaît cependant que la notion d'organismes indicateurs est très subjective (Wetzel, 1983). En effet, les études basées sur les associations d'espèces apparaissent plus pertinentes pour définir la qualité de l'eau que la prise en compte individuelle d'espèces indicatrices (Sladecek, 1973; Collins et Cornelius, 1978). C'est le cas notamment des diatomées qui représentent souvent une partie essentielle du périphyton et qui peuvent être considérées comme de bons indicateurs de la qualité de l'eau (Patrick, 1971, 1973; Collins et Cornelius, 1978; Coste, 1978; Weitzel, 1979; Lafont *et al.*, 1988; Amblard et Couture, 1990; Round, 1991).

La deuxième approche se résume au calcul d'indices mathématiques (indices biotiques, diversité spécifique...) dépendant de la structure de la communauté (Patrick *et al.*, 1954; Patrick et Strawbridge, 1963; Cairns et Dickson, 1971; Pielou, 1977; Sullivan, 1986; Lafont *et al.*, 1988). Généralement, la présence d'effluents industriels influe sur la complexité de la communauté en abaissant la richesse et la diversité spécifiques (Crossey et Lapoint, 1988; Patrick, 1988; Amblard *et al.*, 1990). Ces résultats traduisent la disparition d'espèces sensibles et la prolifération de quelques espèces résistantes (Patrick, 1978; Weber, 1981). Cependant, la relation diversité spécifique/eutrophisation est très controversée (Kalff et Knoechel, 1978). En effet, la baisse de diversité spécifique concomittante à l'eutrophisation de l'eau (Wihlm et Dorris, 1968) n'est pas toujours observée (Marcus, 1980). Il apparaît que

l'influence d'effluents eutrophisants sur la diversité spécifique du périphyton est dépendante du niveau originel de structuration des communautés réceptrices (Odum, 1975), et de la nature et de l'intensité de la perturbation (Marcus, 1980).

Enfin, une troisième voie de recherche consiste en la mesure de réponses fonctionnelles au niveau de l'ensemble d'une communauté (Eichenberger, 1975; Wührmann et Eichenberger, 1975; Collins et Cornelius, 1978; Rodgers et al., 1979; Sand-Jensen, 1983; Crossey et Lapoint, 1988; Wattanabe et al., 1988). Pour Collins et Cornelius (1978) et Weber (1981), les activités métaboliques sont les premières affectées par les changements de qualité de l'eau, alors que les réponses au niveau de la structure de la communauté sont plus lentes dans la mesure où les populations sont susceptibles de s'adapter aux nouvelles conditions. Ainsi, selon Wattanabe et al. (1988) les activités photosynthétiques et hétérotrophes seraient plus sensibles que les indices basés sur la composition spécifique de la communauté. Cependant, les variations naturelles importantes des mesures de réponses fonctionnelles limitent l'utilisation de ces paramètres comme indicateurs de la qualité du milieu aquatique (Schindler et al., 1973). Par contre, Rodgers et al. (1979, 1980) ont observé une plus faible variabilité des paramètres fonctionnels (production, respiration) que des paramètres de structure dans des canaux expérimentaux soumis à des stress environnementaux. Ces auteurs en concluent que la protection de l'intégrité fonctionnelle du périphyton ne signifie pas obligatoirement la protection de son intégrité structurale. En fait, les deux approches sont complémentaires. Alors que les paramètres de structure peuvent permettre de discerner les effets d'un véritable stress, les différences dans les mesures fonctionnelles peuvent être liées à un changement de populations à long terme (Crossey et Lapoint, 1988).

Finalement, signalons que le développement des communautés périphytiques est fortement influencé par la variabilité des conditions physiques (type de substrat, éclairement, vitesse de courant...) ce qui limite l'intérêt de l'utilisation du périphyton naturel comme indicateur de la qualité de l'eau. En conséquence, l'emploi du périphyton pour l'étude des perturbations environnementales nécessite souvent l'utilisation de substrats artificiels en conditions contrôlées, afin d'uniformiser les conditions de développement, ou la sélection de différents sites qui ne doivent différer que par un seul paramètre, afin d'isoler une seule variable (Wetzel, 1983).

2.2.4 Aspects méthodologiques concernant l'étude du périphyton

La complexité et l'hétérogénéité de la communauté périphytique, ainsi que l'absence d'une standardisation méthodologique, limitent son utilisation dans les études d'impact sur la qualité de l'eau et expliquent que le périphyton ait été moins étudié que le phytoplancton (Rosemarin et Gelin, 1978; Aloi, 1990).

La difficulté majeure de l'étude du périphyton est l'obtention d'échantillons uniformes et représentatifs en raison de l'hétérogénéité spatiale de répartition des différents organismes et des problèmes inhérents aux prélèvements en milieu naturel (Weitzel *et al.*, 1979). Les méthodes les plus simples consistent à récupérer, après grattage (Hunding, 1971; Moore, 1974; Stanley, 1976; Power et Matthews, 1983) ou après brossage (Blinn *et al.*, 1980; Ennis et Albright, 1982), le périphyton correspondant à une surface donnée. D'autres techniques plus ou moins complexes utilisent des systèmes d'aspirateur manuel (Eaton et Moss, 1966; Stockner et Armstrong, 1971) ou de pompes péristaltiques portatives (Hamala *et al.*, 1981). Cependant, en raison des différences de textures et de l'irrégularité des surfaces des substrats naturels, les études quantitatives dans de telles conditions sont difficiles.

Aussi, a-t-il été rapidement proposé l'utilisation de substrats artificiels dont les avantages et les inconvénients ont été très longuement discutés (Cooke, 1956; Sladeckova, 1962; Wetzel, 1964; Patrick, 1967; Weitzel *et al.*, 1979; Austin *et al.*, 1981; Amblard et Couture, 1990).

Les principaux avantages des substrats artificiels résident dans la facilité de leur manipulation, leur homogénéité, leur surface uniforme et la possibilité de nombreuses réplications (Schindler *et al.*, 1973; Lamberti et Resh, 1985). L'ensemble de ces caractéristiques permet de réduire la variabilité entre différents réplicats à des valeurs tout à fait acceptables et généralement inférieures à 25% (Brown, 1976; Weitzel *et al.*, 1979). En outre, ces substrats permettent la cueillette d'espèces fragiles, habituellement détruites par les procédés de brossage des substrats naturels (Klasvik, 1974).

Les substrats artificiels utilisés sont de nature très diverse mais la lame de verre est de loin le substrat artificiel le plus utilisé (Marcus, 1980; Weber et McFarland, 1981; Meier *et al.*, 1983). Les principaux avantages sont la facilité de prélèvements du périphyton, le coût peu élevé des lames et les propriétés inertes du substrat (Aloi, 1990). Sa grande popularité tient en grande partie à l'utilisation très répandue du diatomètre Catherwood (Catherwood diatometer) proposé par Patrick *et al.* (1954). Cet échantillonneur consiste en un support à lames à microscope maintenu sous la surface de l'eau par des flotteurs en mousse de polystyrène.

L'orientation des lames de verre dans l'échantillonneur (horizontale, angulaire ou verticale, parallèle ou perpendiculaire au courant) est très variable. Bien que les lames positionnées verticalement soient colonisées plus lentement, les populations microalgales des deux côtés de la lame sont qualitativement et quantitativement similaires. La position horizontale apporte une plus grande accumulation de biomasse, mais permet un plus grand dépôt de

matière organique et de détritus (Aloi, 1990). Bien que dépendant des objectifs visés, les lames de verre sont généralement placées verticalement en parallèle au courant des rivières (Munteanu et Maly, 1981; Oemke et Burton 1986).

Par ailleurs, il a été nécessaire de vérifier si l'utilisation des substrats artificiels n'entraîne pas une sélectivité des espèces présentes. Aussi, de nombreux auteurs se sont-ils attachés à comparer les espèces colonisant les substrats artificiels et les substrats naturels (Castenholz, 1960; Peters *et al.*, 1968; Klasvik, 1974; Brown, 1976; Hooper et Robinson, 1976; Shamess et Robinson, 1982 *in* Robinson, 1983). De cette comparaison, il ressort qu'il existe généralement une bonne similarité entre les espèces colonisant les deux types de substrats, à l'exception, toutefois, des formes filamenteuses (*Cladophora, Oscillatoria, Phormidium, Spirogyra...*) et des microalgues rouges qui sont moins communes sur les substrats artificiels, notamment sur ceux à surface lisse, qu'en milieu naturel (Castenholz, 1960; Klasvik, 1974; Brown, 1976).

Cependant, sous certaines conditions, des différences importantes ont été notées entre les communautés colonisant, par exemple, un substrat artificiel en acétate de cellulose et celles établies sur une espèce de typhacée (Shamess et Robinson, 1982 *in* Robinson, 1983). Aussi, Wetzel (1983) suggèra de restreindre l'utilisation des substrats artificiels à des études relatives de comparaison du périphyton, le long d'un gradient de pollution par exemple.

La durée optimale d'exposition des substrats artificiels est dépendante des conditions physico-chimiques du milieu. Elle serait en moyenne de 4 à 6 semaines (Pringle et Bowers, 1984; APHA *et al.*, 1985; Aloi, 1990), avec une colonisation rapide pendant les deux premières semaines, puis un ralentissement par la suite. Quant à la périodicité d'échantillonnage, elle est dépendante du temps de développement des communautés étudiées (bactéries, microalgues, animaux) (Wetzel, 1983; Aloi, 1990). La recherche d'une plus faible variabilité entre replicats a également amené différents auteurs à utiliser des canaux expérimentaux destinés à simuler les conditions rencontrées en ruisseaux ou en rivières. L'efficacité de ces canaux expérimentaux pour mieux comprendre le développement du périphyton en milieu naturel a été discuté par Warren et Davis (1971) et par McIntire (1975). Différents systèmes ont été décrits dans la littérature (McIntire et al., 1964; Gerhart et al., 1977; Clark et al., 1980; Russel et al., 1981; Peterson et al., 1983; Reiter et Carlson, 1986, Amblard et Couture, 1990). Tous ces systèmes ont pour objet de contrôler les variables physico-chimiques liées au développement du périphyton. Les canaux expérimentaux les mieux contrôlés permettent d'isoler un petit nombre de variables et facilitent ainsi l'interprétation des observations, alors que les systèmes moins contrôlés se rapprochent plus des conditions du milieu naturel (Clark et al., 1980). Ces systèmes expérimentaux ont été utilisés à des fins très diverses telles que l'étude des effets des variations de différentes variables physico-chimiques sur le périphyton (McIntire, 1968; Patrick, 1971; Müller-Haeckel, 1973), l'étude de la production primaire (McIntire et Phinney, 1965; Rodgers et Harvey, 1976), ou encore l'étude des effets des substances polluantes ou de l'apport en éléments nutritifs (Wuhrman et Eichenberger, 1975; Traaen, 1975, 1978; Maki et Johnson, 1976; Gerhart et al., 1977; Stockner et Shortreed, 1978; Amblard et al., 1990). L'ensemble de ces travaux aboutissent à reconnaître le grand potentiel des canaux expérimentaux pour l'étude du périphyton (Clark et al., 1980). Enfin, l'emploi de substrats artificiels dans des enclos contrôlés et placés dans le milieu naturel semble prometteur pour des études expérimentales sur le périphyton (Goldsborough et al., 1986; Pontasch, 1995).

Que ce soit en canaux expérimentaux ou en milieu naturel, sur un substrat naturel ou artificiel, les méthodes d'étude de la structure et du fonctionnement du périphyton s'apparentent beaucoup à celles utiliser pour le phytoplancton et le benthos. Ainsi, différentes méthodes d'estimation de la biomasse sont applicables au périphyton dans son ensemble ou à certains de ces composants: dénombrements cellulaires et calcul des biovolumes, poids sec

28

sans cendre, chlorophylle-*a*, nucléotides adényliques... Fréquemment employés, ils paraissent complémentaires et tendent généralement à établir la distinction, d'une part, entre biomasse autotrophe et biomasse hétérotrophe et, d'autre part, entre organismes vivants et organismes morts. Ces différentes estimations de biomasse ont suscité diverses études comparatives (Sladecek et Sladeckova, 1964; Vollenweider, 1969; Collins et Cornelius, 1978; Clark *et al.*, 1979; Robinson, 1983; Aloi, 1990).

Cependant, en raison de la très grande diversité des organismes présents dans le périphyton, l'étude de la structure des peuplements exige une somme de connaissances taxonomiques approfondies, souvent impossible à réunir chez un seul systématicien. Les plus grandes difficultés sont généralement rencontrées pour la détermination des formes juvéniles (Wetzel, 1983).

Au cours des deux dernières décennies, l'intérêt des chercheurs s'est également porté sur la mesure de paramètres de fonctionnement des communautés périphytiques. Suivant en cela le constat fait par Odum (1975), les recherches se sont essentiellement focalisées sur deux processus majeurs: la photosynthèse et la respiration (Rodgers *et al.*, 1979). Les deux méthodes les plus fréquemment employées pour mesurer l'assimilation photosynthétique sont, sans conteste, les méthodes à l'oxygène dissous (Kelly *et al.*, 1974) et au carbone-14 (Naiman, 1976; APHA *et al.*, 1985). Ces deux estimations aboutissent souvent à des résultats différents (Schindler *et al.*, 1973) même si les tendances générales sont semblables (Bott et Ritter, 1981). D'une façon générale, la méthode au carbone-14 apparaît nettement plus sensible que les mesures réalisées avec l'oxygène dissous (Wetzel, 1983; Aloi, 1990). Cependant, de nombreuses difficultés rendent problématiques les mesures obtenues en milieu naturel. Ainsi, la méthode à l'oxygène dissous est affectée par les variations de cet élément liées à l'activité des composantes non microalgales du périphyton. Par ailleurs, la méthode au carbone-14 nécessite de connaître les concentrations en ¹²C et en ¹⁴C au niveau du site de

fixation; les concentrations mesurées dans l'eau surnageante ne sont pas nécessairement représentatives des conditions régnant au niveau du périphyton (Sand-Jensen, 1983). En effet, les concentrations relatives en ${}^{12}CO_2$ peuvent changer notablement dans la couche périphytique en fonction du temps et de la profondeur à cause des apports en CO₂ nonmarqués issus de la respiration endogène (Jorgensen *et al.*, 1979). D'autres méthodes de mesure de la production primaire ont également été employées, mais de façon plus sporadique. Afin de ne pas perturber les communautés périphytiques, il est grandement souhaitable d'utiliser des chambres d'incubation qui s'adaptent au substrat sans avoir à le déplacer, et qui permettent des mouvements d'eau (Cattaneo et Kalff, 1978; Robinson, 1983; Bothwell, 1983, 1985; Turner *et al.*, 1987).

Malheureusement, les nombreuses difficultés méthodologiques mentionnées précédemment limitent, encore trop souvent, les études sur les activités métaboliques du périphyton (Robinson, 1983; Wetzel, 1983; Aloi, 1990). Des efforts visant à standardiser les techniques doivent donc être entrepris afin de faciliter la comparaison des résultats (Aloi, 1990).

2.3 LES EFFLUENTS DE PÂTES ET PAPIERS

L'industrie canadienne des pâtes et papiers regroupe plus de 100 usines dont la majorité sont à rejet direct dans le milieu naturel, c'est-à-dire sans passer par un réseau d'égout. Plus de la moitié de ces usines sont localisées en bordure des cours d'eau québécois et la majorité possèdent un système de traitement secondaire de leur effluent (44 sur les 65 fabriques en opération en décembre 1995; Flynn, F., comm. pers.). Cette industrie est du point de vue économique l'industrie la plus importante au Canada par la valeur de la production et les salaires totaux payés (Sinclair, 1990). Par ses exportations, elle se classe au deuxième rang des industries canadiennes (Sinclair, 1990). En incluant les autres activitées liées à l'industrie du bois, elle représente un volume d'exportation supérieur à l'ensemble des activités associées à l'énergie, la pêche, l'exploitation minière et l'agriculture (Peck et Daley, 1994).

En raison de l'importance des volumes d'eau rejetés et de leurs caractéristiques physico-chimiques, les effluents de pâtes et papiers ont un impact considérable sur la qualité de l'eau.

2.3.1 Les effluents de pâtes et papiers et la qualité de l'eau

Couillard et Trudel (1981) ont résumé l'ensemble des répercussions potentielles des rejets de fabriques de pâtes et papiers sur le milieu aquatique. Ces répercussions sont largement dépendantes du procédé industriel retenu pour la fabrication du papier et du procédé de traitement des eaux résiduaires (Blaise *et al.*, 1987).

Ces derniers auteurs rangent par ordre de toxicité croissante en considérant trois niveaux trophiques différents (bactéries, microalgues et poissons) les différents procédés industriels suivants:

- 1. papiers fins;
- 2. pâte mi-chimique et/ou pâte thermo-chimico-mécanique;
- 3. pâte Kraft;
- 4. fibres recyclées avec désencrage;
- 5. pâte mécanique meule et/ou pâte thermo-mécanique et/ou pâte mécanique raffinée;
- 6. pâte bisulfite à bas rendement avec ou sans pâte mécanique.

Cette étude met également en évidence que la toxicité des effluents diminue avec la nature des traitements apportés aux rejet: le traitement secondaire biologique s'avère être le plus efficace que le traitement primaire par décantation pour diminuer la charge toxique des effluents de fabriques de pâtes et papiers, conformément aux résultats d'études antérieures (Rainville *et al.*, 1975; Walden, 1976; Hutchins, 1979). Les répercussions sur l'environnement sont également dépendantes du type de bois utilisé et des caractéristiques physico-chimiques des eaux réceptrices (Hutchins, 1979; Davis *et al.*, 1988).

Selon Walden (1976) et Davis et al. (1988), l'impact des rejets d'usines de pâtes et papiers résultent de l'action intégrée de la forte demande biochimique en oxygène pouvant amener un déficit en oxygène dans le cours d'eau récepteur en aval du rejet, des éléments solides en suspension qui sédimentent et affectent le benthos (Campbell, 1972; Harger, 1973), des substances dissoutes, du pH, de la couleur et de la toxicité qui dépend elle-même de l'action combinée de nombreux constituants chimiques des effluents. Les principaux composés toxiques potentiels peuvent être subdivisés en phénols chlorés, quinones, composés sulfureux (mercaptans et sulfures), acides gras et acides résiniques (Rainville et al., 1975; Walden, 1976; Couillard et Trudel, 1981; Davis et al., 1988). Cependant, à l'exception d'Eloranta et al.(1984), la plupart des auteurs s'accordent à reconnaître que l'origine primaire de la toxicité est le chlore qui réagit avec la lignine pour former des phénols chlorés très toxiques (Rainville et al., 1975; Leung et Sell, 1982; Kuivasniemi et al., 1986). Aussi, plusieurs études ont-elles mises en évidence la toxicité des phénols chlorés pour de nombreux organismes aquatiques (Leach et Thakore, 1975; Durkin, 1978; Renberg et al., 1980; Rowe et al., 1982). Il apparaît que les composés phénoliques sont d'autant plus toxiques qu'ils ont plus d'atomes de chlore (Liu et al., 1982; Rowe et al., 1982; Kuivasniemi et al., 1985). De l'étude de la persistance de ces substances, il ressort que la dégradation des phénols chlorés peut être chimique (Dence et al., 1980), microbienne (Leach et al., 1978; Neilson et al., 1983) ou photochimique (Ahlborg et Thunberg, 1980; Kuiper et Hanstveit, 1984). Enfin, ces composés peuvent être adsorbés par des particules (Ahlborg et Thunberg, 1980; Kuiper et Hanstveit, 1984) ou se volatiliser (Baker *et al.*, 1980). Enfin, il faut signaler l'étude très détaillée de Walden (1976) sur la toxicité et les méthodologies (bioessais) nécessaires à la mise en évidence des effets toxiques. Sur ce dernier point, Blaise *et al.* (1987) ont comparé les réponses toxiques de trois indicateurs biologiques (bactéries, microalgues et poissons) exposés à des effluents d'usines de pâtes et papiers. Ces auteurs concluent que ce sont les microalgues qui sont les indicateurs les plus sensibles mais recommandent tout de même l'utilisation d'une combinaison de biotests pour mieux appréhender les dangers associés à ces effluents vis-à-vis du milieu aquatique.

2.3.2 Effets sur les communautés microalgales

Au niveau de la communauté microalgale, les travaux sur les conséquences des rejets d'effluents de fabriques de pâtes et papiers sont assez nombreux. Cependant, l'impact de ces effluents est difficile à cerner. En effet, trois facteurs principaux, susceptibles d'engendrer des effets de stimulation et d'inhibition, peuvent affecter les microalgues exposées à ce type d'effluent. Ce sont l'atténuation de la lumière par la couleur ou la turbidité, la phytotoxicité de l'effluent et son potentiel eutrophisant (Davis *et al.*, 1988). En conséquence, il est difficile de savoir si la baisse des valeurs de production primaire phytoplanctonique et périphytique observée près des rejets d'usines de pâtes et papiers est attribuable à la toxicité et/ou à la turbidité de l'effluent qui limite la pénétration de l'énergie lumineuse dans l'eau.

Pour différents auteurs (Stockner et Costella, 1976; Stockner et Cliff, 1976; Eloranta *et al.*, 1984; Davis *et al.*, 1988) la décroissance des valeurs d'assimilation photosynthétique du phytoplancton près de ces effluents est essentiellement imputable au facteur lumineux. En

effet, dans leurs situations d'étude, il n'est pas observé, parallèlement à la baisse de production primaire, de diminution de biomasse ou de changement de structure de la communauté qui pourrait traduire un effet toxique. Stockner et Cliff (1976) précisent que cette baisse de l'activité photosynthétique est en relation avec l'absorption sélective, par ce type d'effluent, de la lumière de longueurs d'ondes comprises entre 400 et 500 nm, plage qui correspond à l'un des deux pics d'absorption de la chlorophylle-*a* et des pigments accessoires. En rivière, Davis *et al.* (1988), observent que la baisse de production du phytoplancton dans la zone de mélange des effluents d'usines de pâtes et papiers est liée au fait que les communautés microalgales, qui proviennent de l'amont et dérivent, n'ont pas le temps de s'adapter ou de se rétablir par une succession d'espèces. Il n'en va pas de même pour le périphyton dont le maintien de l'activité photosynthétique serait rendu possible par des adaptations chromatiques ou par la croissance d'espèces avec un équipement pigmentaire plus efficace (Davis *et al.*, 1988).

Inversement, d'autres travaux attribuent la baisse d'assimilation photosynthétique du périphyton et du phytoplancton observée près des rejets en milieu naturel (Moore et Lowe, 1977), ou en conditions expérimentales (Rainville *et al.*, 1975), à l'effet toxique des effluents d'usines de papier Kraft. Ainsi, la toxicité de certains effluents de fabriques de pâtes Kraft blanchies à l'aide du bioxide de chlore (ClO_2) serait attribuable à la transformation de cette molécule en chlorate (ClO_3) lors du processus de blanchiment. Le chlorate se substituerait au nitrate comme substrat à l'enzyme nitrate réductase pour former la chlorite ayant des propriétés oxidatives des protéines intracellulaires (Hofstra, 1977). Cependant, bien que Lehtinen *et al.* (1988) aient associé la toxicité observée chez des communautés algales marines de la mer Baltique à la présence des chlorates, l'absence apparente de toxicité des effluents d'usine de pâte Kraft blanchie au bioxide de chlorate au bioxide de chlorates, l'absence apparente de toxicité des effluents d'usine de pâte Kraft blanchie au bioxide de chlorates, l'absence apparente de toxicité des

microalgales d'eau douce (Perrin et Bothwell, 1992; Haley *et al.*, 1995) s'expliquerait par la grande affinité des mécanismes de prise en charge et de réduction des microalgues d'eau douce pour le nitrate par rapport au chlorate (Perrin et Bothwell, 1992).

Cependant, l'effet inhibiteur sur la photosynthèse, par toxicité ou atténuation de la lumière, pourrait être compensé par l'effet eutrophisant (apports en azote, phosphore et carbone) des effluents (Parker et Sibert, 1973; Stockner et Cliff, 1976; Stockner et Costella, 1976; Bothwell et Stockner, 1980; Amblard et al., 1990). Les traitements secondaires abaissent le potentiel toxique mais ne font pas disparaître totalement la couleur de ces effluents car les composés organiques responsables de la coloration sont très résistants à la dégradation bactérienne (Dugan, 1972; Wong et Prahacs, 1977; Davis et al., 1988). Néanmoins, après traitement secondaire il est possible de mettre en évidence le potentiel eutrophisant des rejets en atténuant le facteur lumineux par une épaisseur d'eau très faible (Stockner et Costella, 1978). Dans ces conditions, Bothwell et Stockner (1980) ont pu montrer, expérimentalement, que la présence d'effluent de fabrique de pâtes et papiers à des concentrations allant de 0,5 à 25% se traduisait par une augmentation de la biomasse des microalgues fixées. L'effet enregistré était d'autant plus fort que les concentrations étaient élevées, même si une baisse de la biomasse s'est produite pendant les premiers jours en présence des plus fortes concentrations d'effluent. En raison de la limitation nutritive de l'eau de rivière utilisée dans cette expérience, il semble que l'apport d'azote soit ici responsable de l'effet eutrophisant. Ces auteurs constatent, par ailleurs, que les microalgues responsables de l'augmentation de biomasse pour les fortes concentrations d'effluent correspondaient à des espèces de milieux eutrophes (Synedra ulna, Fragillaria spp., Nitzchia frustulum). Ils en concluent que le fort développement de ces espèces était plus lié à un avantage compétitif pour de fortes concentrations d'éléments nutritifs, qu'à une meilleure tolérance à la toxicité.

En résumé, l'impact potentiel des effluents de fabriques de pâtes et papiers est très complexe en raison de la composition de ses rejets (Davis *et al.*, 1988; Amblard *et al.*, 1990). La complexité de l'action des effluents d'usines de pâtes et papiers sur les producteurs primaires se traduit fréquemment par une inhibition de la croissance à proximité immédiate du rejet et par un effet eutrophisant à plus longue distance (Kuivasniemi *et al.*, 1986). Comme le font remarquer Amblard *et al.* (1990), pour connaître l'impact réel de tels effluents riches en matières organiques dissoutes, il est essentiel de considérer l'apport en carbone organique dissous par ces effluents comme un éventuel élément eutrophisant pour les communautés périphytiques microalgales.

CHAPITRE III MÉTHODOLOGIE

3.1 ÉTUDES EN MILIEU NATUREL

3.1.1 Plans expérimentaux

L'étude a été menée à Clermont sur la rivière Malbaie située à 150 km au nord-est de Québec. Cette rivière draine les eaux d'un bassin versant de 1 7 00 km² situé principalement dans une zone forestière dont la vocation de réserve faunique limite les apports anthropiques en amont de l'usine de pâtes et papiers, elle-même située en amont de la ville. Le débit moyen annuel de la rivière Malbaie a varié entre 31,2 et 35,0 m³/sec en 1989 et 1990, alors que le débit mensuel moyen pour les mois de juin, de juillet et d'août a oscillé entre 13,9 et 53,8 m³/sec (Environnement Canada, 1992).

La population de la municipalité de Clermont est d'environ 4 000 habitants. Jusqu'en 1993, cette municipalité ne traitait pas ses eaux usées mais elle était munie d'un réseau collecteur se déversant à environ 0,5 km en aval de la station située dans la zone de mélange de l'effluent.

L'usine de pâtes et papiers fabrique du papier journal non-blanchi à partir de pâte thermomécanique. Sa production moyenne en 1990 était d'environ 950 tonnes par jour. Jusqu'en 1993, toutes les eaux de procédé étaient séparées des eaux sanitaires de l'usine et étaient dirigées vers un traitement par gravité dans un décanteur avant d'être rejetées à la rivière Malbaie. En 1990, le débit mensuel moyen de l'effluent déversé dans les eaux de la rivière Malbaie était de 52 000 m³/d alors que les concentrations en matière en suspension

(MES) et en demande biochimique en oxygène (DBO₅) étaient respectivement d'environ 10 000 et 29 000 kg/d (Gouvernement du Québec, 1991). Avec l'installation d'un tamis à la salle d'écorcage à la fin de 1991, la qualité de l'effluent en terme de MES et de DBO₅ s'est grandement améliorée. Toutefois, les exigences normatives provinciales pour ces paramètres ont été régulièrement dépassées et ce, principalement en période d'étiage.

Les études en milieu naturel se sont déroulées sur quatre saisons estivales de 1989 à 1993. La localisation des stations d'échantillonnage pour ces études est présentée à la figure 3.1. Selon les recommandations du U.S.EPA (1985), une première station (station A) était située à environ 2,5 km en amont du point de rejet de l'effluent de la fabrique de pâtes et papiers. Une seconde station (station B) était située immédiatement dans la zone de mélange, à 0,2 km du point de rejet.

A chaque station, des substrats artificiels en verre $(3,75 \times 2,5 \text{ cm})$ ont été placés sur des supports en plexiglass maintenus à l'horizontale à 5 cm sous la surface de l'eau par des flotteurs en mousse de polystyrène (figures 3.2 et 3.3).

Après une période de colonisation initiale d'environ deux semaines, des mesures sur l'ensemble des variables retenues (figure 3.4) ont été effectuées de la manière suivante pour chacune des 4 études saisonnières.

Étude en 1989

À caractère exploratoire, cette première étude avait pour objectif de tester la faisabilité de la réalisation de l'ensemble des manipulations à effectuer en rapport avec la démarche proposée. Ainsi, les échantillonneurs ont été installés le 13 juin et les différentes variables pris en compte ont été mesurées, de façon hebdomadaire, aux quatre stations du 27 juin au 18 juillet.



Figure 3.1: Localisation des stations d'échantillonnage sur la rivière Malbaie



Figure 3.2: Échantillonneurs supportant les substrats artificiels à la station en amont (A) et en aval (B) du point de rejet de l'effluent



75 cm





Figure 3.3: Vue en plongée (A) et latérale (B) de l'échantillonneur supportant les substrats artificiels en milieu naturel.



Étude en 1990

Afin d'évaluer les capacités adaptatives des communautés périphytiques, deux échantillonneurs ont été positionnés à chacune des deux stations situées l'une en amont (station A) et l'autre en aval (station B) du point de rejet de l'effluent. Après cinq semaines de colonisation, un échantillonneur de chaque station a été repositionné à l'autre station. Les échantillonneurs ont été installés le 25 juin et les mesures ont été effectuées, toutes les semaines, du 9 juillet au 13 août.

Étude en 1991

Lors de cette étude nous avons évalué la variabilité à court terme des variables en effectuant des mesures quotidiennes, aux stations A et B, du 8 au 12 juillet (les échantillonneurs ayant été installés trois semaines plutôt soit le 17 juin). Lors de cette période, soit du 11 au 12 juillet, des mesures d'assimilations photosynthétique et photohétérotrophe ainsi que d'incorporation de la radioactivité dans les macromolécules ont été effectuées sur la base d'un cycle nycthéméral avec prélèvements toutes les 4 heures pendant 36 heures.

Étude en 1993

Afin d'isoler les espèces dominantes aux stations A et B pour des mesures d'assimilations photosynthétique et photohétérotrophe, des échantillons ont été prélevés les 19 et 26 juillet, toujours après deux semaines de colonisation (le 5 juillet).

3.1.2 Variables abiotiques

Les variables physico-chimiques analysées à chacune des stations lors des quatre études réalisées en milieu naturel sont présentées au tableau 3.1. Les variables physiques ont été

Variable	Unité	Limite de	Étude				Méthode d'analyse ou modèle de l'appareil de mesure	
		détection	1989	1990	1991	1993		Référence à la méthode du MEF ¹
Conductivité Intensité lumineuse Oxygène dissous pH Température	Siemen s µE/s/m² mg/L	0,1 0,05	X X X X X X	X X X X X	X X X X X X	X X X X	Hanna Instruments (HI8033) LI-Cor (LI188B) YSI (51B) Accumet (955) YSI (51B)	
Turbidité	°C U.T.N.	0,03	х	х	х		Néphélémétrie	MENVIQ.86.10/103-Tur.1.1
Azote total	mg/L	0,02	x	х	x		Colorimétrie automatisée avec sulfate d'hydrazine	MENVIQ.86.07/303-N3.1
Azote ammoniacal	mg/L	0,02	x	x	x	x	Colorimétrie automatisée avec phénate de sodium	MENVIQ.87.11/303-N1.1
Nitrite-nitrate	mg/L	0,02	x	x	x		Colorimétrie automatisée avec sulfate d'hydrazine et le N.E.D.	MENVIQ.89.07/303-NO ₃ 1.1
dissous	mg/L	0,2	x	x	x	x	avec acide sulfurique	MENVIQ.88.10/303-C1.1
Carbone organique dissous	mg/L	0,08	X	X	X	х	avec persulfate de potassium	MENVIQ.88.10/303-C2.1
Phosphore total	mg/L	0,01	x	x	x		automatisée	MENVIQ.87.06/303-P3.1
Ortho-phosphate	mg/L	0,01	x	x	x		acide ascorbique	MENVIQ.86.07/303-P1.1
Silice	mg/L	0,1	x	x	x		Colorimétrie automatisée avec le molybdate d'ammonium	MENVIQ.87.11/303-Si1.1

Tableau 3.1: Caractérisation physico-chimique des eaux de surface des stations d'étude en milieu naturel.

¹MEF: Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec

mesurées *in situ* à l'aide d'appareils préalablement calibrés selon les spécifications du fabricant. Les mesures d'intensité lumineuse ont été effectuées à la surface de l'eau et à la profondeur des lames installées sur l'échantillonneur. Pour les variables chimiques, des échantillons d'eau ont été prélevés à la profondeur d'incubation des substrats artificiels dans des récipients neufs préalablement rincés avec l'eau de la station correspondante et conservés à l'obscurité et à 4 °C. Les variables ont été mesurées moins de 24 heures après leur prélèvement selon les protocoles standards en vigueur dans les laboratoires du Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec.

Lors de l'étude de 1990, les variables suivantes ont été mesurées dans un petit ruisseau (débit moyen d'environ 2 m³/sec) se déversant dans la rivière Malbaie au niveau de la station située dans la zone de mélange de l'effluent : carbone organique dissous, carbone inorganique dissous, turbidité, nitrites, nitrates, azote amoniacal, ortho-phosphate, azote total, phosphore total et silice. Notons que ce ruisseau prend son origine dans une zone forestière et ne reçoit aucun apport anthropique.

3.1.3 Variables biotiques

Dénombrements bactériens sur la communauté périphytique et sur l'eau

Nous avons estimé la biomasse bactérienne par des dénombrements bactériens totaux (bactéries hétérotrophes viables aérobies et anaérobies facultatives: BHA à 20 °C (APHA, 1985)). Ces dénombrements, effectués sur la communauté périphytique (après le grattage d'une lame dans 10 mL d'eau stérile) et sur l'eau surnageante, sont exprimés en unités viables formant des colonies (U.F.C.).

Le choix de la méthode de mise en culture plutôt que le dénombrement bactérien par microscopie à épifluorescence est justifié uniquement par l'absence d'un microscope approprié dans nos laboratoires. Cependant, il est connu que la méthode retenue dans cette étude sous-estime approximativement d'un facteur 1000 la densité bactérienne déterminée par épifluorescence (Servais *et al.*, 1992; Amblard *et al.*, 1996).

Un échantillon du substrat naturel (une pierre d'un diamètre d'environ 10 cm) a été prélevé à chaque station le 20 juillet 1990 à la profondeur d'incubation des substrats artificiels. Une surface de 10 cm² a été grattée et brossée dans 20 mL d'eau stérile.

Dénombrements des microalgues périphytiques

A chaque station, une lame de verre a été prélevée et grattée dans 20 mL d'eau de rivière préfiltrée sur une membrane Millipore $(0, 2 \mu m)$. Après fixation à l'aide d'une solution de Lugol, les échantillons ont été conservés à 4 °C et à l'obscurité jusqu'à leur examen au laboratoire. Les dénombrements des microalgues périphytiques ont été effectués sur un sous-échantillon de 5 ou 10 mL ayant sédimenté pendant 24 heures à l'aide d'un microscope inversé Leitz selon la méthode d'Utermohl (1958) modifiée par Legendre et Watt (1971-1972).

La structure des communautés microalgales périphytiques a été exprimée à l'aide de l'indice de diversité spécifique de Shannon et Weaver (1949). Cet indice est calculé selon la formule:

$$H' = -\sum \frac{n_i}{N} \cdot \log_2 \frac{n_i}{N}$$

où:	H'	= indice de	diversité	spécifique	(bits/cellule))
-----	----	-------------	-----------	------------	----------------	---

 $n_i = nombre d'individus de l'espèce i$

N = nombre total d'individus dénombrés

Chlorophylle-a

Le dosage de la chlorophylle-*a* a été effectué en fluorométrie après une extraction pendant 24 heures (à 4 °C et à l'obscurité) d'une lame de verre placée dans 20 mL d'acétone à 90% (APHA, 1985). Deux à trois réplicats ont été réalisés à chaque station.

Nucléotides adényliques (ATP et ADP)

Les nucléotides adényliques (ADP et ATP) ont été extraits dans 5 mL de diméthyl sulfoxide (DMSO) selon un protocole décrit par Amblard (1986, 1988) et Amblard et El Magouri (1985). Après une agitation vigoureuse de 30 secondes et une attente de 2 minutes, 15 mL de tampon MOPS¹ ont été ajoutés aux échantillons lesquels, par la suite, ont été rapidement congelés et conservés pour le dosage subséquent. Ces expériences ont été réalisées en double, en 1989, puis sur six lames par station pour les deux autres années.

Les concentrations en adénosine diphosphate (ADP) et en adénosine triphosphate (ATP) ont été déterminées avec la méthode à la luciférine-luciférase (Strehler et Tötter, 1952) après conversion de l'ADP en ATP (Pradet, 1967) et selon le protocole décrit par Amblard (1986, 1988). Cette transformation enzymatique est décrite par l'équation suivante (Amblard et Bourdier, 1990):

$$ADP + phosphoénol pyruvate \xrightarrow{pyruvate kinase}{Mg^{++},K^{+}} > ATP$$

¹ Acide morpholino-propylsulfonique (Morpholino propane sulfonic acid) 0,01 M + MgSO₄ 0,01 M

La quantification de l'émission de lumière a été effectuée grâce à un luminomètre LKB. Les lectures ont été corrigées à l'aide de standards internes et externes afin de tenir compte de divers facteurs d'alténuation de l'émission de lumière. La biomasse totale de la communauté périphytique en mg C/m² a été calculée en multipliant les concentrations en ATP et ADP par un facteur 130, facteur correspondant à la valeur moyenne du rapport carbone/(ATP et ADP) des cellules phytoplanctoniques (Amblard, 1986, 1988).

Assimilation photosynthétique

L'assimilation photosynthétique a été mesurée selon un protocole adapté à partir de celui proposé par Steemann-Nielsen (1952, 1977). A chacune des stations, de 3 à 6 lames ont été déposées séparément dans 2 à 4 récipients en verre transparent au rayonnement ultraviolet et dans 1 ou 2 récipients en verre opaque. Ces récipients à fond plat d'une capacité totale de 130 mL recevait chacun 50 mL d'eau non-filtrée de la station de prélèvement correspondante. Chaque échantillon a été inoculé avec 1 mL NaH¹⁴CO₃ contenant 10 μ Ci (activité finale de 0,2 μ Ci/mL). Tous les récipients ont été placés sur un support attaché à la surface de l'échantillonneur et incubé durant une période de 4 heures. Les mesures de l'assimilation photosynthétique sur un cycle nycthéméral ont été effectuées à tous les 4 heures en prélevant de nouvelles lames et en les déposant dans des récipients propres.

Pour les études en 1989, 1990 et 1991, chaque lame a été grattée immédiatement après la période d'incubation dans 20 mL d'eau de la rivière préfiltrée sur une membrane Millipore® (porosité nominale de 0,2 μ m). Par la suite, une partie aliquote de 5 à 7 mL a été filtrée sur une membrane Millipore® (porosité nominale de 0,45 μ m) à une pression inférieure à 200 mm Hg. Une fois séché, les filtres ont été déposés dans une fiole à scintillation contenant 10 mL de liquide à scintillation (Scintiverse II®).

Pour l'étude en 1993, les manipulations post-incubation ont été effectuées au laboratoire. Chaque lame destinée aux mesures d'activité photosynthétique a été prélevée en milieu naturel et déposée dans une bouteille de 20 mL remplie entièrement d'eau de la rivière préfiltrée sur une membrane Millipore® (porosité nominale de 0,2 μ m). Après l'ajout de Lugol, les bouteilles étaient fermées hermétiquement et conservées à l'obscurité et à 4^oC.

La radioactivité a été mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation liquide LKB. Les valeurs d'assimilation photosynthétique ont été calculées à partir de la différence de radioactivité entre le récipient clair et le récipient sombre, et après correction en fonction du volume incubé, de la taille de l'échantillon, du temps d'incubation, du carbone inorganique disponible dans le milieu (mesuré à la profondeur des lames au début de chaque période d'incubation) et de l'effet isotopique.

Les pertes potentielles d'activité dues à la fixation au Lugol et au délai de filtration ont été estimées à partir d'essais réalisés au laboratoire. L'expérience a été menée du 4 au 26 juillet 1993 dans deux canaux expérimentaux en plexiglass dont les caractéristiques et les conditions d'utilisation sont présentées à la section 3.2. L'eau de chacun des deux canaux provenait respectivement des stations situées en amont et en aval du point de rejet de l'effluent dans la rivière Malbaie. Après une période de colonisation d'environ quatre semaines, 8 lames pour chacun des canaux ont été incubées dans 6 récipients en verre clair et 2 en verre opaque après l'ajout de D-glucose tritié (activité finale de 0,10 μ Ci/mL; concentration finale de 0,35 μ M) et de NaH¹⁴CO₃ (activité finale de 0,2 μ Ci/mL).

Après une période d'incubation de 4 heures, le matériel biologique colonisant 3 lames provenant de 3 récipients clairs et une lame provenant d'un récipient opaque a été gratté et déposé dans 10 mL d'eau stérile. Une fraction aliquote de 5 mL a été filtrée sur une membrane Millipore® (0,45 μ m). La radioactivité a été mesurée selon le protocole décrit ci-dessus. Chacune des quatre autres lames provenant de chaque canal a été placée dans un récipient de 20 mL rempli à pleine capacité avec de l'eau provenant du canal correspondant. Après l'ajout de Lugol, les récipients ont été fermés hermétiquement et entreposés à l'obscurité et à 4 °C. Après 48 heures, chaque lame a été grattée et une partie aliquote de 5 mL a été filtrée sur Millipore de 0,45 μ m. Après sèchage du filtre, la radioactivité a été mesurée selon le protocole présenté précédemment.

Les résultats présentés à la figure 3.5 ont mis en évidence qu'il n'y avait aucune différence significative (p > 0,05) entre les valeurs d'assimilation photosynthétique et photohétérotrophe obtenues immédiatement après l'incubation et celles provenant des échantillons conservés 48 heures après ajout de Lugol.

Assimilation photohétérotrophe potentielle

Le protocole expérimental suivi pour les mesures de l'assimilation photohétérotrophe potentielle est semblable à celui décrit pour l'assimilation photosynthétique.

Le tableau 3.2 présente les substrats organiques utilisés pour chaque étude ainsi que leurs concentrations et les activités finales. Le choix d'un composé organique tritié est justifié par plusieurs raisons. Selon Azam et Holm-Hansen (1973), l'activité spécifique des composés tritiés est jusqu'à 10 fois plus grande que celle des composés marqués au carbone-14.

De plus, la refixation potentielle par la photosynthèse de produits inorganiques issus de l'hétérotrophie bactérienne (McKinley, 1977) ou de la respiration algale (Richardson et Fogg, 1982) est minimisée. Enfin, la technique du double marquage peut être utilisée dans la mesure où le précurseur utilisé pour la mesure de l'activité photosynthétique est marqué au ¹⁴C.



Figure 3.5: Valeurs d'assimilation photohétérotrophe et photolithotrophe obtenues incubation (sans Lugol) et 48 heures après incubation et ajout de Lugol (avec Lugol) (] écart-type).
Tableau 3.2:	Concentrations	et	activités	finales	des	substances	organiques	marquées
	employées lors	des	différente	es études	5			

Étude	Substrat organique (³ H-)	Concentration finale (µM)	Activité finale (µCi/mL)
Été 1989 (Milieu naturel)	Acides aminés (totaux)	0,20	0,13
Été 1990 (Milieu naturel et laboratoire)	Glucose	0,16	0,11
Été 1991 (Milieu naturel et laboratoire)	Glucose	0,22	0,10
Été 1993 (Milieu naturel et laboratoire)	Glucose	0,35	0,10

Allocation du carbone inorganique et de la radioactivité dans les macromolécules

L'allocation de la radioactivité dans les macromolécules (lipides, polysaccharides et protéines) et les composés de faible poids moléculaire (acides aminés, acides organiques, monosaccharides, etc.) après incorporation des substrats organique et inorganique marqués, a été mesurée à partir des mêmes échantillons que ceux incubés pour l'assimilation globale. Une partie aliquote de 7 mL a été filtrée sur membrane Millipore[®] 0,45 µm. Les filtres ont été séchés et rapidement congelés pour servir au fractionnement biochimique selon la méthode décrite par Lancelot et Mathot (1985).

La solubilité relative des composés dans différents extractants permet d'extraire les lipides à l'aide d'un mélange chloroforme-méthanol (2/1;V/V), les composés de faible poids moléculaire à l'aide de l'éthanol à chaud, et finalement, de séparer les protéines des polysaccharides suite à une précipitation avec l'acide trichloroacétique chaud. La radioactivité associée à chaque fraction recueillie dans une fiole a été mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation liquide.

3.1.4 Études microautoradiographiques

En 1989 et 1993, lors des incubations pour les mesures d'assimilations, de 2 à 3 lames ont été déposées dans autant de récipients en verre transparent. Ces récipients à fond plat d'une capacité totale de 130 mL ont reçu 50 mL d'eau de la station correspondante. Chaque échantillon a été inoculé avec 1 mL du composé organique marqué utilisé pour les mesures d'assimilation photohétérotrophe (tableau 3.2). Tous les récipients ont été placés sur un support attaché à la surface de l'échantillonneur et incubés durant une période d'environ 4 heures. Au terme de l'incubation, chaque lame a été grattée séparément dans 10 mL d'eau de rivière préfiltrée sur une membrane 0,2 µm. L'échantillon a été centrifugé et le culot préfixé

par quelques gouttes de glutaraldéhyde 2% dans le tampon phosphate 0,2 M, pH 7,2 pendant 30 minutes. Chaque échantillon a été ensuite concentré par centrifugation et conservé à 4 °C, et à l'obscurité, jusqu'à son examen au laboratoire.

Des frottis sur lame ont été réalisés à partir de ce concentrat et traités selon la procédure d'autoradiographie de trace décrite par Knoechel et Kalff (1976) et Bourdier et Bohatier (1987). La révélation des autoradiogrammes a été réalisée après une période d'exposition de 72 heures à 4 °C en immergeant les lames pendant 4 minutes dans le révélateur D19B à 18 °C. Une fois fixés et montés, les autoradiogrammes ont été observés en microscopie photonique.

3.1.5 Isolement des espèces microalgales périphytiques

Le protocole expérimental, suivi en 1993, pour l'isolement des espèces microalgales périphytiques est basé sur la technique développée par Rivkin (1985). La fraction inutilisée des échantillons sur lesquels ont été prélevées des parties aliquotes pour les mesures d'assimilation photosynthétique et photohétérotrophe, a été filtrée sur une membrane de 0,45 μ m et le filtre rincé 6 à 7 fois avec 20 mL d'eau stérile. L'eau et les cellules ont été recueillies directement dans une fiole conique et centifugées à faible vitesse (environ 2000 g) pendant 20 minutes. À l'aide d'une micropipette, 40 μ L du culot ont été déposés sur une lame. Sous microscope, les cellules ont été isolées en transférant successivement (7 à 10 fois) 5 μ L d'eau contenant les cellules à isoler dans 20 μ L d'eau stérile. Entre 6 et 25 cellules ont été par la suite transférées dans une fiole à scintillation. Pour chacune des deux espèces isolées (*Tabellaria flocculosa* et *Cymbella ventricosa*), 4 réplicats pour les trois échantillons prélevés à chacune des deux stations ont été réalisés. La radioactivité a été mesurée au compteur à scintillation liquide.

3.2 ÉTUDES EN CANAUX EXPÉRIMENTAUX

3.2.1 Plans expérimentaux

La figure 3.6 illustre l'assemblage utilisé pour les études réalisées en canaux expérimentaux. Deux expériences ont été menées dans 4 canaux en plexiglass de dimensions identiques (longueur: 123 cm; largeur: 20 cm et hauteur: 13 cm). Des substrats en verre identiques à ceux utilisés dans nos échantillonneurs disposés en milieu naturel ont été déposés sur le fond de chaque canal (5 cm sous la surface de l'eau). Quatre pompes péristaltiques assuraient la recirculation permanente de l'eau, contenue dans des réservoirs fermés en polypropylène de 100 L, à l'intérieure des canaux à une vitesse à peu près constante de 5 cm/sec (vitesse à peu près équivalente à la vitesse moyenne estimée aux stations au début de chaque période d'expérimentation à l'aide d'un bouchon de liège). L'eau dans chacun des canaux provenait de la station située en amont du point de rejet de l'effluent de la fabrique de pâtes et papiers (figure 3.1; station A). À tous les trois jours, entre 20% et 25% du volume total des réservoirs était renouvelé avec de l'eau prélevée hebdomadairement à la station A. Ce taux de renouvellement a été calculé à partir des essais réalisés à l'aide du même montage expérimental par Amblard *et al.* (1990).

L'éclairage de la chambre environnementale était fourni par des tubes fluorescents de type «Daylight» selon un cycle de 16 heures d'éclairement et 8 heures d'obscurité. L'intensité lumineuse mesurée en surface de l'eau est demeurée à peu près constante à environ 50 μ E/s/m² comparativement à celle mesurée sur le terrain qui a varié entre 20 et 960 μ E/s/m² (moyenne: 248 μ E/s/m²). L'utilisation d'une chambre environnementale à température contrôlée a permis de maintenir la température de l'eau à 21 ± 1 °C.



Figure 3.6: Montage expérimental utilisé lors des études en laboratoire.

Après une période de colonisation d'environ deux semaines, des quantités croissantes (0,5%, 2,5% et 10% V/V) d'effluent, prélevé hebdomadairement à la sortie de l'usine, ont été ajoutées dans les réservoirs de 3 des 4 canaux. La gamme de dilutions correspond à peu près aux taux de dilutions de l'effluent à la station en aval lors de nos campagnes d'échantillonnage (tableau 3.3).

Les mesures de l'ensemble des variables retenues ont été effectuées chaque semaine entre le 10 juillet et le 14 août 1990 et entre le 4 et le 25 juin 1991 en s'assurant que le renouvellement de l'eau des réservoirs avait été réalisé entre 24 et 36 heures avant les mesures.

3.2.2 Variables abiotiques et biotiques

Les mêmes variables physico-chimiques que celles étudiées lors des expériences en milieu naturel ont été mesurées dans les canaux. Les appareils et protocoles utilisés pour l'étude de ces différentes variables sont présentées au tableau 3.1.

Les variables biotiques mesurées lors des deux expériences sont les suivantes: dénombrements bactériens et des microalgues périphytiques, chlorophylle-*a*, nucléotides adényliques, assimilation autotrophe et photohétérotrophe ainsi que l'incorporation de la radioactivité dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire. Les protocoles suivis sont les mêmes que ceux décrits précédemment à la section 3.1.3.

	C	/L)	Pourcentage			
	Station en amont	Station en aval	Effluent	(Moyenne)	de dilution	
4 juillet 11 juillet	1,0	11,0	95.0		10,0 5 0	
18 juillet	0,8	6,5	,,,,,	(97,5)	6,0	
22 août	0,6	2,6			2,0	
29 août	0,6	0,7	100,0		0,1	

Tableau 3.3: Taux de dilution de l'effluent à la station en aval en 1989.

3.3 CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DE L'EFFLUENT

Vingt litres d'effluent pur ont été prélevés directement à la sortie du décanteur les 11 juillet et 29 août 1989 et le 30 juillet 1990 afin d'en connaître les caractéristiques physico-chimiques et biologiques. Les variables physico-chimiques analysées sont présentées au tableau 3.4. Pour chacun des prélèvements, trois tests de toxicité on été réalisés selon les protocoles normalisés du Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec:

- Le test de toxicité avec l'algue Selenastrum capricornutum; CI50-96h (MENVIQ.91.06/800 - S. cap. 1.1)
- Le test de toxicité avec la bactérie *Photobacterium phosphoreum* (Microtox®); CI50-5 min. et 15 min. (MENVIQ.88.01/804-Micro.1.1)
- Le test de toxicité avec le crustacé *Daphnia magna*; CI50-48h (MENVIQ.90.05/804-D.mag.1.1)

Les caractéristiques physico-chimiques et biologiques de ces trois prélèvements sont tout à fait comparables aux données de caractérisation de l'effluent de cette fabrique de pâtes et papiers obtenues dans le cadre des programmes de suivi des gouvernements fédéral et provincial (Lavallée, 1991).

Variable	Unité	Limite de	Date	e de prélève	ment	Méthode d'analyse	
		détection	11-07-89	29-08-89	30-07-90		Référence à la méthode du MEF ¹
Alcalinité totale	mg/L	0,1	x	x	x	Conductivimétrie	MENVIQ.86.08/303-A1.C.1.1
Couleur	U.C.V	1		x		Colorimétrie automatisée avec platino-cobalt	MENVIQ.86.07/103-Col.1.1
MES		5	x	x	x	Gravimétrie	MENVIQ.87.05/104-S.S.1.1
pH	mg/L	0,1	x	x	x	Électrométrie	MENVIQ.87.11/103-pH1.1
Solides totaux		0,3	x	x	x	Gravimétrie	MENVIQ.87.05/104-S.T.1.1
Solides décantables	mg/L	5		x		Gravimétrie	MENVIQ.87.05/104-S.Dé.1.1
Solides dissous	mg/L	5	x	x		Gravimétrie	MENVIQ.87.05/104-S.D.1.1
Turbidité	mg/L	0,03	x		x	Néphélémétrie	MENVIQ.86.10/103-Tur.1.1
	U.T.N.					-	
Acides gras		0,002	x	x	x	Chromatographie en phase	MENVIQ.88.01/414-Aci.R.1.3
Acides résiniques	mg/L	0,002	x	x	x	gazeuse couplée avec un	
*	mg/L					spectromètre de masse avec	
						dérivations avec BSTFA	
Tannins-lignines		0,1	x	х	x	Colorométrie automatisée	MENVIQ.89.06/403-T.L.1.1
-	mg/L					avec acides phosphoriques	
Azote total		0,02	x	х	x	Colorimétrie automatisée avec	MENVIQ.86.07/303-N3.1
	mg/L					sulfate d'hydrazine	
Azote ammoniacal		0,02	x	x	x	Colorimétrie automatisée avec	MENVIQ.87.11/303-N1.1
and the second sec	mg/L					phénate de sodium	
Nitrite-nitrate	Ŭ	0,02	x	x	x	Colorimétrie automatisée avec	MENVIQ.89.07/303-NO ₃ 1.1
	mg/L					sulfate d'hydrazine et le	
Phosphore total		0.01	x	x	x	N.E.D.	MENVIO.87.06/303-P3.1
	mg/L			1000		Digestion U.V. et colorimétrie	
Ortho-phosphate	8	0.01	x	х	x	automatisée	MENVIO.86.07/303-P1.1
ormo prospano	mg/L	-,			-	Colorimétrie automatisée avec	
Silice		0.1	x	х	x	acide ascorbique	MENVIO.87.11/303-Si1.1
	mg/L	-,,,				Colorimétrie automatisée avec	
						le molybdate d'ammonium	
						ie morjoune a ammonium	

Tableau 3.4: Variables physico-chimiques mesurées dans les échantillons de l'effluent pur

Variable	Unité	Limite de	Date de prélèvement M		Méthode d'analyse		
		detection	11-07-89	29-08-89	30-07-90		Référence à la méthode du MEF ¹
Carbone inorganique dissous	mg/L	0,2	x	x	x	Conductivimétrie automatisée avec acide fulvique	MENVIQ.88.10/303-C1.1
Carbone organique dissous	mg/L	0,08	x	x	x	Conductivimétrie automatisée avec persulfate de potassium	MENVIQ.88.10/303-C2.1
DBO 5 jours	mg/L	1,5	x	x	x	Oxygène dissous avant et	MENVIQ.88.10/304-DBO1.1
DBO 5 jours décantable	mg/L	1,5		x		après incubation avec consortium bactérien	
DCO	mg/L	1,5	x	x	x	Reflux en système ouvert et titrimétrie	MENVIQ.88.10.304-DCO1.1
Chlorures	mg/L	0,1		x		Conductivimétrie	MENVIQ.86.08/303-Al.C.1.1
Substances phénoliques	mg/L	0,002	x		x	Colorimétrie automatisée avec l'amino-4 antipyrine	MENVIQ.90.05/404-Phé.1.1
Sulfates	mg/L	0,5	x	x	x	Colorimétrie automatisée avec calmagite	MENVIQ.87.11/303-SO ₄ 1.1
Sulfures	mg/L	0,02	х	х	х	Colorimétrie automatisée avec le chlorure ferrique et l'oxylate du diméthyl-p- phénilène diamine	MENVIQ.86.07/303-S1.1
Aluminium	mg/L	0,01		x		Spectrométrie d'émission au	MENVIQ.90.04/203-Mét.1.3
Calcium	mg/L	0,01		x		plasma d'argon	
Cuivre	mg/L	0,001		x			
Fer	mg/L	0,002		x			
Magnésium	mg/L	0,01		х			
Manganèse	mg/L	0,001		х			
Sodium	mg/L	0,01		x			
Zinc	mg/L	0,001		х			

Tableau 3.4: Variables physico-chimiques mesurées dans les échantillons de l'effluent pur

¹ MEF: Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec

3.4 ANALYSES STATISTIQUES

La normalité des distributions des éléments des populations testées a été vérifiée à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov alors que l'homogénéité des variances a été testée à l'aide des tests de Cohran C et de Bartlett. Dans la majorité des cas testés, la distribution des éléments des populations se sont avérées normales mais les variances étaient souvent très inégales. Étant donné la faible taille de l'échantillonnage, il n'a pas été toujours possible de vérifier ces conditions. Le test « *t* » pour échantillons appariés a donc été utilisé pour tester les différences éventuelles entre les variables suivies aux deux stations et dans les canaux expérimentaux (pour les variables exprimées en pourcentage, ce test statistique a été réalisé sur les données absolues). Selon Sherrer (1984), ce test peut être utilisé sans réticence pour comparer de petits échantillons puisque de nombreuses études ont montré que ce test était suffisamment robuste pour supporter une violation importante des conditions d'application...

Les hypothèses principale et alternative s'énoncent comme suit:

H₀: les distributions des populations d'origine sont semblables;

H₁: toutes les distributions des populations d'origine ne sont pas semblables;

Le rejet de H_0 à un niveau de significacité inférieur à 0,05 amène à l'acceptabilité de H_1 à un niveau d'erreur β inconnu.

Finalement, le degré de liaison entre les variables à l'étude a été évalué à l'aide du test de corrélation de Spearman (r_s).

Ces tests statistiques ont été réalisés à l'aide du prologiciel STATISTICA®, version 5.0 pour WINDOWS® de la compagnie STATSOFT®.

CHAPITRE IV RÉSULTATS

4.1 CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES, BIOLOGIQUES ET TOXICOLOGIQUES DE L'EFFLUENT PUR

Les caractéristiques physico-chimiques et biologiques de l'effluent pur pour les prélèvements effectués en 1989 et 1990, sont présentées dans le tableau 4.1.

Cet effluent acide présente des caractéristiques variables d'un prélèvement à l'autre. Cependant, de façon générale, l'effluent est relativement riche en phosphore, en silice et en métaux (aluminium, fer, magnésium, manganèse, zinc). De plus, il représente une charge considérable en carbone organique dissous (260 à 350 mg/L) et en matière en suspension (100 à 170 mg/L).

Par ailleurs, les apports en substances phénoliques, en tannins-lignines, en sulfates, en sulfures et en chlorures ne sont pas négligeables tandis que les valeurs de la turbidité et de la couleur sont élevées. De plus, les concentrations moyennes en acides résiniques et en acides gras sont relativement importantes (respectivement 8,9 et 4,8 mg/L) par rapport aux concentrations généralement rencontrées dans ce type d'effluent. Le plus souvent, elles sont inférieures, respectivement, à 0,35 mg/L et 0,6 mg/L lorsque l'effluent a subi un traitement primaire (Dellinger, 1980).

Avec une demande biochimique en oxygène élevée (> 330 mg/L), cet effluent présente une densité importante de bactéries hétérotrophes viables aérobies ou anaérobies facultatives (B.H.A.): à 20 °C de 3,0 à 7,6 x 10^6 bactéries/mL.

Variable	Unité	Limite	Date de prélèvement					
		détection	11-07-89	29-08-89	30-07-90			
Alcalinité totale Couleur	mg/L U.C.V.	0,1	22	35 250	< 0,1			
MES	mg/L	5	170	100	120			
H		0.1	5.2	54	53			
Solides totaux	mg/L	0.3	600	800	130			
Solides décantables	mg/L	5			100			
Solides dissous	mg/L	5	430	710				
Turbidité	U.T.N.	0,03	240	,10	290			
		,						
Acides gras	mg/L	0,002	3,1	5,0	6,5			
Acides résiniques	mg/L	0,002	5,0	11,5	10,5			
Tannins-lignines	mg/L	0,1	95	100	100			
A goto total	ma	0.02	0.2	27	2			
Azote total	mg/L	0,02	0,2	2,7	3			
Azote ammoniacai	mg/L	0,02	0,05	0,05	0,05			
Nurite-nitrate	mg/L	0,02	0,1	0,1	0,1			
Phosphore total	mg/L	0,01	0,5	1,0	< 0,6			
Ortho-phosphate	mg/L	0,01	0,07	0,21				
Silice	mg/L	0,1	8,1	7,5	8,3			
Carbone inorganique dissous	mg/L	0,2	3,6	4,8	1,2			
Carbone organique dissous	mg/L	0,08	320	260	350			
DPO 5 iours		1.5	440	220	(20			
DBO 5 jours	mg/L	1,5	440	330	620			
DBO 5 jours decantable	mg/L	1,5	1.170	280	1 400			
DCO	mg/L	1,5	11/0	1 050	1 400			
Chiorures Substances al (a climate	mg/L	0,1	1.0	1				
Substances phenoliques	mg/L	0,002	1,8	00	0,03			
Suirates	mg/L	0,5	85	90	< 1			
Sulfures	mg/L	0,02	0,74	0,09	0,86			
Aluminium	mø/I	0.01		03				
Calcium	mg/L	0.01		14.4				
Cuivre	mg/L	0.001		< 0.001				
Fer	mg/L	0.002		0.7				
Magnésium	mg/L	0.01		22				
Manganèse	mg/L	0,001		1.5				
Sodium	mg/L	0,001		29				
Zinc	mg/L	0,001		0.4				
Zinie	ing/L	0,001		0,4				
Bactéries	U.F.C./mL		3 700 000	7 600 000	3 000 000			
Algues (CL ₆₀ -96 h)	$\mathbf{U},\mathbf{T}^{1}$		22 (19-25)	20 (11-110)	19 (14-30)			
Daphnies (CL ₆ -48 h)	U.T.		6.3 (5.6-7.1)	4.2 (3.7-4 8)	5.3 (4.5-6 1)			
Microtox (CI_{co} -5 min)	U.T.		110 (99-122)	44 (35-59)	120 (70-260)			
Microtox (CI_{50} -15 min)	U.T.		95 (85-108	47 (36-63)	210 (130-390)			

Tableau 4.1: Caractéristiques physico-chimiques, biologiques et toxicologiques de l'effluent pur en 1989 et 1990

¹ U.T. : Unité toxique = nombre de dilutions nécessaires pour réduire la toxicité à la valeur de la CL50, la CI50 ou la CE50.

Par ailleurs, les tests de toxicité en laboratoire ont démontré une toxicité élevée de l'effluent pour les bactéries (CI50-5 min. d'environ 90 U.T.¹), les algues (CI50-96 h d'environ 20 U.T.) et les crustacés (CI50-48 h d'environ 5 U.T.). Cependant, ces résultats sont communs pour ce type d'effluent n'ayant pas subi de traitement secondaire (Blaise *et al.*, 1987).

Finalement, sur la base des rejets mensuels moyens de matière en suspension et de demande biochimique en oxygène (tableau 4.2), la qualité de l'effluent est demeurée à peu près constante pendant les quatre années d'échantillonnage, bien que les débits quotidiens moyens de l'effluent aient diminué de 1988 à 1993, ce qui devrait impliquer une légère amélioration des conditions dans la zone de mélange.

¹ U.T.: Unité toxique = nombre de dilutions nécessaires pour réduire la toxicité à la valeur de la CL 50, la CI50 ou la CE50.

Variable	Année	Jan- vier	Fé- vrier	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Sep- tembre	Octobre	No- vembre	Décembre	Moyenne
MES (mg/L)	1988 1990 1992 1993	240 210 121 176	288 232 139 205	165 210 158 162	236 148 131 160	115 170 132 128	124 188 144 127	130 162 148 147	125 165 133 137	116 198 139 146	139 177 145 145	135 109 150 154	150 141 170 167	164 176 143 155
Moye	enne	187	216	174	169	136	146	147	140	150	152	137	157	160
DBO ₅ (mg/L)	1988 1990 1992 1993	486 599 426 474	554 628 450 527	378 727 510 669	513 609 584 590	514 475 378 512	316 622 350 415	268 485 416 411	305 423 366 419	421 475 457 460	387 502 418 513	485 524 427 550	651 641 348 563	440 559 428 509
Moye	enne	496	540	571	574	470	426	395	378	453	455	496	551	484
Débit (m³/d)	1988 1990 1992 1993	51 573 57 773 43 270 41 046	53 694 57 854 43 190 39 964	50 478 56 751 44 582 37 305	50 476 58 133 41 215 39 800	52 475 57 794 43 116 37 875	51 885 50 177 43 118 37 116	63 615 51 012 45 572 37 685	68 007 52 282 44 735 40 687	59 757 50 256 43 787 39 460	61 745 45 888 43 353 39 918	58 023 39 447 41 344 37 624	58 928 38 074 41 195 35 747	56 721 51 287 43 206 38 686
Moye	nne	48 416	48 676	47 279	47 406	47 815	45 574	49 471	51 428	48 315	47 726	44 110	43 486	47 475

Tableau 4.2: Valeurs mensuelles moyennes de la concentration en matière en suspension (MES), de la demande biochimique en oxygène sur 5 jours (DBO₅) et du débit de l'effluent pur en 1988, 1990, 1992 et 1993 (source: Bilan annuel de conformité environnementale; MEF, 1989, 1991, 1993 et 1994).

4.2 ÉTUDES EN MILIEU NATUREL

4.2.1 Évolution des caractéristiques physico-chimiques et biologiques des eaux de la rivière Malbaie

Les caractéristiques physico-chimiques et biologiques des eaux de la rivière Malbaie pour les quatre années d'échantillonnage (tableau 4.3) permettent d'identifier plusieurs différences de qualité de l'eau en amont et en aval du point de rejet.

Les eaux de la rivière Malbaie, en amont du point de rejet de l'effluent de pâtes et papiers, se caractérisent par leur faible teneur en éléments nutritifs (phosphore et azote) et un pH proche de la neutralité. Ces eaux sont peu chargées en carbone organique (moyenne de 4,0 mg/L) et sont faiblement turbides (valeur moyenne: 0,7 U.T.N.). En revanche, les eaux en aval sont significativement plus turbides, ont une conductivité plus élevée et sont plus riches en nitrites et nitrates, en carbone organique et inorganique dissous et en silice que les eaux en amont.

Les caractéristiques physico-chimiques du milieu semblent tout à fait comparables d'une année à l'autre pour une même période de l'année (tableau 4.4), à l'exception de plus faibles concentrations en phosphore total en 1990.

De plus, les caractéristiques physico-chimiques du milieu sont comparables aux valeurs mensuelles moyennes (tableau 4.5) mesurées à la station témoin depuis 1984 par l'intermédiaire du réseau de suivi de la qualité des rivières du Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec (Banque de données de qualité du milieu; MEF, 1996). Par ailleurs, ces données sont représentatives des eaux naturelles du bouclier canadien (Naiman, 1983; Hudon *et al.*, 1987; CMRE, 1991; MEF, 1995a; MEF, 1995b; MEF, 1996). Tableau 4.3: Caractéristiques physico-chimiques et biologiques des eaux de la rivière Malbaie à la station en amont (A) et à la station en aval (B) pour les quatre années d'étude. La situation géographique des stations est présentée à la figure 3.1 (valeurs significatives en caractère gras pour $p \le 0,05$).

			198			1990						
Variable	Unité	Moyenne (écart-type)			test «t» po onnées app	our pariées	Moyenne (écart-type)			test «t» pour données appariées		
		Station A	Station B	N	t	p	Station A	Station B	N	t	р	
Conductivité	μ Siemens	23,8 (2,2)	45,4 (5,8)	4	-11,47	0,0014	26,6 (4,3)	46,4 (7,1)	6	-8,55	0,0004	
Intensité lumineuse (surface)	$\mu E/s/m$	160 (37)	169 (57)	4	-0,32	0,7693	542 (564)	468 (291)	6	0,88	0,4198	
Oxygène dissous	mg/L	9,3 (0,4)	8,2 (1,0)	4	1,71	0,1858	8,1 (1,8)	8,4 (2,4)	6	0,76	0,5268	
pH		6,7 (0,5)	6,8 (0,5)	4	-1,00	0,3910	6,9 (0,4)	7,2 (1,0)	6	-1,40	0,2196	
Température	° C	18,2 (0,9)	19,5 (1,9)	4	-1,05	0,3691	18,3 (1,4)	16,2 (3,7)	6	1,37	0,2281	
Turbidité	U.T.N.	0,7 (0,2)	2,0 (0,8	4	-2,85	0,0443	0,6 (0,2)	1,2 (0,7)	6	-2,32	0,0440	
Azote total	mg/L	0,15 (0,07)	0,25 (0,05)	4	-2,95	0,0599	0,14 (0,02)	0,35 (0,10)	6	-5,23	0,0034	
Azote ammoniacal	mg/L	0,02 (-)	< 0,02 (-)	4			0,02 (0,01)	0,03 (0,01)	6	-1,46	0,2031	
Nitrite-nitrate	mg/L	0,04 (0,02)	0,19 (0,01)	4	-31,86	0,0001	0,03 (0,01)	0,20 (0,03)	6	-13,87	0,0000	
Phosphore total	mg/L	0,06 (0,03)	0,05 (0,01)	4	0,60	0,5908	0,01 (0,01)	0,01 (0,01)	6	-1,58	0,1747	
Ortho-phosphate	mg/L	0,02 (0,01)	0,02 (0,01)	4	-1,00	0,3910	0,01 (0,01)	0,01 (0,01)	6	-1,00	0,3632	
C inorganique dissous	mg/L	2,0 (0,3)	5,0 (0,4)	4	-12,43	0,0011	2,7 (0,5)	5,4 (0,5)	6	-9,75	0,0002	
C organique dissous	mg/L	3,9 (0,3)	9,0 (2,1)	4	-4,28	0,0234	2,7 (0,7)	14,4 (1,6)	6	-14,93	0,0000	
Silice	mg/L	6,3 (0,3)	12,3 (0,5)	4	-25,57	0,0001	6,2 (0,3)	12,5 (0,6)	6	-37,65	0,0000	
Bactéries x 10 ³	U.F.C./mL	0,86 (0,05)	87 (110)	4	-1,58	0,2132	1,19 (0,91)	19,2 (20,7)	6	-2,15	0,0842	

Tableau 4.3: Caractéristiques physico-chimiques et biologiques des eaux de la rivière Malbaie à la station en amont (A) et la station en aval (B) pour les quatre années d'étude. La situation géographique des stations est présentée à la figure 3.1 (valeurs significatives en caractère gras pour $p \le 0,05$).

	** • •		199		1993						
Variable	Unite	Moyenne (c	test «t» p lonnées ap	oour pariée	Moyenne (écart-type)	test «t» pour données appariée			
		Station A	Station B	N	t	р	Station A	Station B	N	t	р
Conductivité	μSiemens	51,0 (19,7)	87,8 (24,4)	5	-2,97	0,0591					
Intensité lumineuse (surface)	$\mu \mathrm{E/s/m}$	632 (538)	503 (265)	5	0,30	0,7943	650 (58)	370 (198)	2	2,0	0,3637
Oxygène dissous	mg/L	10,2 (0,3)	10,2 (0,7)	5	0,19	0,8625	11,5 (0,4)	10,5 (0,2)	2	7,00	0,0903
pH		6,6 (0,3)	6,7 (0,2)	5	-1,13	0,3416	8,3 (0,4)	7,9 (-)	2	1,00	0,4097
Température	°C	14,9 (2,0)	12,5 (1,1)	5	1,71	0,1632	18 (-)	17 (-)	2		
Turbidité	U.T.N.	0,8 (0,2)	7,9 (7,5)	5	-2,15	0,0480					
Azote total	mg/L	0,19 (0,06)	0,32 (0,14)	5	-3,06	0,0378					35
Azote ammoniacal	mg/L	< 0,02 (-)	0,12 (0,13)	5	-0,02	0,9889	0,03 (0,01)	0,02 (0,01)	2	8,15	0,0000
Nitrite-nitrate	mg/L	0,07 (0,01)	0,15 (0,01)	5	-3,81	0,0190					
Phosphore total	mg/L	0,05 (0,02)	0,07 (0,03)	5	-1,04	0,3572					
Ortho-phosphate	mg/L	0,01 (-)	0,03 (0,02)	5	-2,45	0,0705		5			
C inorganique dissous	mg/L	2,6 (0,2)	5,3 (0,9)	5	-6,63	0,0027	2,6 (0,1)	6,2 (0,4)	2	-24,00	0,0269
C organique dissous	mg/L	3,8 (0,7)	22,3 (12,8)	5	-3,16	0,0343	4,6 (0,6)	12,1 (4,4)	2	-20	0,0278
Silice	mg/L	7,0 (0,2)	12,2 (0,5)	5	-26,99	0,0000	6,0 (0,1)	12,0 (-)	2	-121,0	0,0053
Bactéries x 10 ³	U.F.C./mL	0,12 (0,04)	385 (662)	5	-1,09	0,3380	21,5 (0,7)	> 300 (-)	2	-599,6	0,0000

Tableau 4.4:Comparaison interannuelle (comparaison d'années 1989/1990, 1990/1991 et 1991/1993) de la qualité estivale des
eaux de la rivière Malbaie, telle que déterminée pour la station en amont (A) et pour la station en aval (B) - niveau
de signification du test «t» pour données appariées pour les variables physico-chimiques.

	TT 1.7		Station A			Station B			
Variable	Unite	1989 - 1990	1990 - 1991	1991 - 1993	1989 - 1990	1990 - 1991	1991 - 1993		
Conductivité	μSiemens	0,3404	0,0662		0,9541	0,0733	0,2954		
Intensité lumineuse (surface)	$\mu E/s/m$	0,1909	0,9456	0,3458	0,2024	0,3687	0,2954		
Oxygène dissous	mg/L	0,3193	0,1328	0,3608	0,7986	0,0806	0,3656		
pH		0,3575	0,3817		0,3424	0,3243			
Température	°C	0,4132	0,0778	0,5424	0,4125	0,0570	0,1494		
Turbidité	U.T.N.	0,1328	0,0705		0,4456	0,0904			
Azote total	mg/L	0,8705	0,0802		0,2036	0,4121			
Azote ammoniacal	mg/L		0,3739	0,6257		0,2851	0,2951		
Nitrite-nitrate	mg/L	0,6638	0,4766		0,5117	0,0806			
Phosphore total	mg/L	0,0546	0,0446		0,0543	0,1922			
Ortho-phosphate	mg/L	0,1817			0,1817	0,1202			
C inorganique dissous	mg/L	0,0530	0,4909	1,0000	0,0892	0,8052	0,1933		
C organique dissous	mg/L	0,2152	0,3278	0,8743	0,4646	0,0567	0,1352		
Silice	mg/L	0,2691	0,0621			0,6213	0,5000		
Bactéries x 10 ³	U.F.C./mL	0,5708	0,0559	0,1461	0,2800	0,3381	0,5000		

Tableau 4.5:	Caractéristiques physico-chimiques de la rivière Malbaie pour la période de
	1984 à 1996 (source: Banque de données du programme de suivi de la qualité
	du milieu (BQMA) du Ministère de l'nvironnement et de la Faune du Québec).

		Valeurs moyennes (écart-type)								
Variable	Unité	Juin	Juillet	Août	Annuelles					
Conductivité	μSiemens	54,2 (20,4)	72,4 (31,1)	76,6 (22,2)	84,5 (43,1)					
Oxygène dissous	mg/L	n.d.	n.d.	9,0 (1,7)	11,2 (1,8)					
pH		6,9 (0,1)	6,1 (0,5)	6,8 (0,5)	6,8 (0,4)					
Température	°C	14,1 (2,3)	17,0 (2,5)	17,0 (2,5	7,7 (6,8)					
Turbidité	U.T.N.	1,3 (1,8)	2,8 (3,0)	1,9 (2,9)	3,4 (9,2)					
Azote total	mg/L	0,17 (0,06)	0,16 (0,13)	0,23 (0,01)	0,21 (0,20)					
Azote ammoniacal	mg/L	0,03 (0,03)	0,02 (0,01)	0,02 (0,01)	0,03 (0,07)					
Nitrite-nitrate	mg/L	0,03 (0,02)	0,03 (0,01)	0,07 (0,02)	0,07 (0,06)					
Phosphore total	mg/L	0,02 (0,03)	0,02 (0,01)	0,03 (0,02)	0,03 (0,02)					
Ortho-phosphate	mg/L	n.d.	n.d.	n.d.	0,01 (0,01)					
C inorganique dissous	mg/L	3,9 (3,9)	3,8 (2,2)	2,6 (0,9)	4,4 (7,7)					
C organique dissous	mg/L	6,0 (1,2)	8,1 (2,7)	5,2 (0,4)	7,9 (3,8)					
Silice	mg/L	5,3 (1,7)	6,4 (1,4)	7,1 (1,7)	7,1 (2,6)					

n.d.; non disponible

Il n'en est pas de même pour la station située dans la zone de mélange où les caractéristiques physico-chimiques et bactériologiques sont très variables à une échelle de temps journalière et hebdomadaire. A cette station, la présence de l'effluent se traduit par une augmentation de la turbidité (valeur moyenne: 4,0 U.T.N.), de la conductivité et de la densité bactérienne (tableau 4.3). On note une corrélation de Spearman élevée entre ces valeurs et les concentrations de carbone organique (moyenne: 14,6 mg/L) et de carbone inorganique dissous (tableau 4.6). Par contre, les valeurs de pH demeurent relativement stables et proches de la neutralité.

Des apports importants en azote, principalement sous les formes nitrites-nitrates, et en silice (SiO_2) ont été systématiquement observés à cette station. Les rapports azote total sur phosphore total sont généralement plus élevés à la station en aval avec des valeurs variant de 2,0 à 56,0 alors que pour la station en amont ce rapport fluctue entre 1,0 et 16,0.

Finalement, la qualité des eaux du ruisseau se déversant à la station B (tableau 4.7) ne diffère pas de celle des stations en amont et en aval pour l'azote total, l'azote ammoniacal, le phosphore total, l'orthophosphate, le carbone inorganique dissous et la turbidité. Cependant, ce ruisseau est plus concentré en nitritres et nitrates ainsi qu'en silice que la station en amont, mais moins concentré en carbone organique dissous et en bactéries que la station en aval de l'effluent.

Tableau 4.6: Valeurs de coefficients de corrélation de Spearman entre quelques variables physico-chimiques et biologiques (valeurs significatives pour : * $p \le 0,05$, ** $p \le 0,01$ et *** $p \le 0,001$).

1989	Conductivité	Turbidité	CID ¹	COD ²	Densité bactérienne ³
Conductivité	1				
Turbidité	0,76*	1			
CID ¹	0,68	0,76*	1		
COD^2	0,70*	0,71*	0,92***	1	
Densité bactérienne ³	0,89***	0,85***	0,50	0,61	1
1990	Conductivité	Turbidité	CID ¹	COD ²	Densité bactérienne ³
Conductivité	1				
Turbidité	0,48	1			
CID ¹	0,25	0,73***	1		
$\rm COD^2$	0,59*	0.,31	0,54*	1	
Densité bactérienne ³	0,59*	0,88***	0,73**	-0,40	1
1001	Conductivité	Turbiditá	CID	COD ²	Densitá
1991	Conductivite	Turblane	CID	COD	bactérienne ³
Conductivité	1				
Turbidité	0,97***	1			
CID ¹	0,48	0,75*	1		
COD^2	0,66*	0,52	0,72*	1	
Densité bactérienne ³	0,64*	0,66*	0,88***	0,85**	1
1993	Conductivité	Turbidité	CID ¹	COD ²	Densité
					bactérienne ³
Conductivité	1				
Turbidité	n.a.	1			
CID^1	n.a.	n.a.	1		
COD ²	n.a.	n.a.	0,95***	1	
Densité bactérienne ³	n.a.	n.a.	0,95***	0,85**	1

¹ carbone inorganique dissous; ² carbone organique dissous; ³ eau de surface; n.a.: non applicable

Tableau 4.7: Comparaison des caractéristiques physico-chimiques et biologiques des eaux du ruisseau se déversant au niveau de la station B avec celles des eaux de la station en amont (A) et de la station en aval (B) (prélèvements effectués en 1990).

Variable	Unité	Ruisseau Moyenne (écartype)	Station A				Station B			
			Moyenne (écart- type)	Test «t» pour données appariées			Moyenne (écart-	Test «t» pour données appariées		
				N	t	р	type)	N	t	р
Azote total	mg/L	0,21 (0,17)	0,14 (0,02)	3			0,35 (0,10)	3	-1,87	0,2029
Azote ammoniacal	mg/L	0,02 (-)	0,02 (0,01)	3	-0,73	0,5429	0,03 (0,01)	3	1,23	0,3438
Nitrite-nitrate	mg/L	0,23 (0,02)	0,03 (0,01)	3	-14,6	0,0281	0,20 (0,03)	3	1,15	0,3681
Phosphore total	mg/L	0,01 (0,01)	0,01 (0,01)	3	-0,26	0,8165	0,01 (0,01)	3	3,72	0,0761
Ortho-phosphate	mg/L	0,02 (0,01)	0,01 (0,01)	3	-1,32	0,3333	0,01 (0,01)	3	-1,81	0,2123
C inorganique dissous	mg/L	4,5 (1,4)	2,7 (0,5)	3	-1,00	0,4227	5,4 (0,5)	3	-1,00	0,4227
C organique dissous	mg/L	3,7 (2,7)	2,7 (0,7)	3	-1,00	0,4227	14,4 (1,6)	3	0,50	0,0067
Silice	mg/L	12,3 (0,4)	6,2 (0,3)	3	-51,87	0,0037	12,5 (0,6)	3	0,00	1,00
Turbidité	U.T.N.	0,7 (0,2)	0,6 (0,2)	3	-1,89	0,1994	1,2 (0,7)	3	1,00	0,0527
Bactéries x 10 ³	U.F.C./mL	1,6 (0,4)	1,2 (0,9)	3	0,32	0,7795	19,2 (20,7)	3	-14,89	0,0255

gras : valeurs significatives pour $p \le 0,05$

4.2.2 Évolution de la structure des communautés périphytiques

4.2.2.1 Bactéries hétérotrophes périphytiques

Quelque soit l'année considérée, la densité bactérienne mesurée sur les lames (figure 4.1) est en général plus élevée pour les échantillons prélevés à la station recevant l'effluent par rapport à celle mesurée à la station témoin, bien que cette différence ne soit significative qu'à deux reprises en 1990 et 1993 (tableau 4.8). La variabilité temporelle de la densité bactérienne au niveau de la station en amont est relativement faible avec des valeurs minimales de 5,3 x 10⁶ U.F.C./m² et maximales de 0,2 x 10 ⁹ U.F.C./m². À la station B, cette variabilité est plus grande avec des valeurs minimales de densité de 1,9 x 10 ⁶ U.F.C./m² et maximales de densité de 52,0 x 10 ⁹ et 52,2 x 10 ⁹ U.F.C./m² respectivement le 23 juillet 1990 et le 12 juillet 1991.

Le transfert d'un échantillonneur supportant des lames colonisées par des communautés de la station B vers la station témoin, effectué lors de la campagne de 1990, a amené une diminution de la densité bactérienne, alors que le déplacement inverse a résulté en une augmentation de la densité des bactéries hétérotrophes des lames supportées par l'échantillonneur provenant de la station en amont (figure 4.1b). Cependant, cette évolution de la densité bactérienne déplacés par rapport à ceux demeurés à la station d'origine n'a pu être statistiquement mise en évidence (tableau 4.8).

4.2.2.2 Communauté microalgale

Composition spécifique

Lors des mesures hebdomadaires faites en 1989 et 1990, les communautés microalgales des deux stations sont nettement dominées par des diatomées. Ce groupe représente entre 54%



Figure 4.1: Évolution de la densité bactérienne périphytique pour les quatre années d'étude

Tableau 4.8: Niveau de signification du test «t» pour données appariées pour les variables de structure des communautés périphytiques se développant à la station en amont (A) et à la station en aval (B) en 1989, 1990, 1991 et 1993 (valeurs significatives en caractère gras pour p ≤ 0,05).

		Densité	C	Composition spéci	fique ²	Diversité	Biomasse microalgale	Biomasse totale	Biomasse microalgale / biomasse totale
		bactérienne ¹	Diatomées	Cyanophycées	Chlorophycées	spécifique			
1989	A - B	0,2132	0,0544	0,0348	0,0637	0,3088	0,1120	0,0049	0,6769
1990	A -B	0,0029	0,0226	0,0579	0,5127	0,0188	0,6380	0,9147	0,0497
	A transposé - B	0,3742	0,1230	0,2611	0,0588	0,8128	0,3500	0,1873	
	B transposé - A	0,6663	0,6979	0,8185	0,1863	0,0689	0,6345	0,1759	14
1991	A - B	0,3739	0,0225	0,0198	0,0199	0,2186	0,1096	0,4228	0,0007
(cycle nycthéméral)	А -В								
1993	A - B	0,0011					0,4097		
1989 - 1990	Station A Station B	0,2389 0,5426	0,3619 0,2705	0,1294 0,0672	0,5206 0,0712	0,7209 0,2075	0,1213 0,0634	0,0214 0,0821	0,0658 0,0556
1990 - 1991	Station A	0,2023	0,1121	0,6670	0,4689	0,8487	0,2636	0,1054	0,1236
1001 - 1002	Station B	0,3743	0,0600	0,0747	0,0845	0,3618	0,2171	0,3743	0,6895
1991 - 1995	Station B	0,0001					0,7033		

¹ Densité bactérienne du périphyton

² À noter: les tests statistiques ont été réalisés sur les données absolues et non pas sur les données relatives (pourcentage)

et 97% de la densité microalgale périphytique totale (figures 4.2 et 4.3). À la station en amont, cette classe est principalement représentée par les espèces *Achnanthes minutissima*, *Tabellaria flocculosa* et *Achnanthes linearis*. À la station B, *Cocconeis placentula* et *Cymbella ventricosa* sont les espèces dominantes. En 1989, les cyanobactéries ont une importance relative plus grande à la station B qu'à la station A avec une abondance relative variant respectivement de 9% à 37% et de 2% à 4%. Par contre, en 1990, l'importance relative des cyanobactéries à la station B par rapport à la station A est moins marquée (tableau 4.8).

Le transfert d'un échantillonneur supportant des lames colonisées par des communautés périphytiques de la station B vers la station témoin lors des mesures faites en 1990 (figure 4.3) a amené une modification profonde de la structure originelle. En effet, dès la deuxième semaine après le transfert de l'échantillonneur, la structure des communautés de l'échantillonneur transposé devient semblable à celle des communautés de l'échantillonneur laissé en place (tableau 4.8). Le déplacement inverse d'un échantillonneur déposé initialement en amont vers la station en aval a également permis le développement d'une communauté similaire à celle de l'échantillonneur de la station B (figure 4.3). Notons cependant, que le transfert de l'aval vers l'amont est caractérisé par la présence d'une communauté de transition composée à plus de 30% de cyanobactéries.

Lors de nos observations réalisées en 1991 (figure 4.4), nous avons aussi noté une différence significative (tableau 4.8) de la composition spécifique de la communauté microalgale entre les stations. Cependant, la dominance des espèces de diatomés *C. placentula* et *C. ventricosa* à la station B est partagée avec les cyanobactéries mais principalement avec la classe des chlorophycées (jusqu'à 64% de la population) dont l'espèce planctonique *Actinastrum hantzchii*. Cette communauté est caractérisée par une variabilité temporelle quotidienne plus importante de l'importance relative des différentes classes de microalgues par rapport à celle de la station A ou observée sur une échelle hebdomadaire en 1990 (figure 4.3).



Figure 4.2: Importance relative (compte des cellules) des différentes classes de microalgues et de cyanobactéries en 1989



Figure 4.3: Importance relative (compte des cellules) des différentes classes de microalgues et de cyanobactéries en 1990



Figure 4.4: Importance relative (compte des cellules) des différentes classes de microalgues et de cyanobactéries en 1991

Pour l'ensemble des études, les espèces secondaires les mieux représentées sont, pour la station située en amont, les diatomées *Synedra ulna* et *Synedra rumpens*, la chlorophycée *Ulothrix* sp. et la cyanobactérie *Synechoccus lineare*. Pour les communautés microalgales de la station située dans la zone de mélange, ce sont la chlorophycée *A. hantzchii* et la cyanobactérie *S. lineare* qui dominent.

Enfin, la composition spécifique des communautés microalgales et de cyanobactéries observées sur les supports artificiels est proche de celle notée sur les substrats naturels (pierres) récoltés aux deux stations (figure 4.5). En effet, malgré une diversité spécifique sensiblement plus élevée, les communautés se développant sur les pierres prélevées aux deux stations sont également dominées, en amont, par des espèces de la classe des diatomées (83% de l'abondance totale) dont *A. minutissima* et *T. flocculosa* et, en aval, par des espèces de diatomées (57% de l'abondance totale) dont *C. cocconeis* et *C. ventricosa* ainsi que de chlorophycées dont *A. hantzchii* (37% de l'abondance totale).

Diversité spécifique

Quelque soit la période d'étude, la communauté périphytique microalgale de la station B présente une diversité spécifique systématiquement inférieure à celle observée en amont de l'effluent (figure 4.6). Ainsi, les indices de diversité moyens pour la station B en 1989, 1990 et 1991 sont, respectivement, de 1,37 (0,69 à 1,46 bits/cellule), 1,01 (1,08 à 1,26 bits/cellule) et 1,44 (1,38 à 1,48 bits/cellule). À la station A, les valeurs moyennes obtenues en 1989, 1990, et 1991 sont, respectivement de 1,61 (1,48 à 1,86 bits/cellule), 1,28 (0,70 à 1,70 bits/cellule) et 1,52 (1,46 à 1,56 bits/cellule). Cependant, cette diminution de la diversité spécifique à la station en aval n'est statistiquement significative qu'en 1990 (tableau 4.8).



Figure 4.5: Importance relative (compte des cellules) des différentes classes de microalgues et de cyanobactéries se développant sur les substrats naturels (pierres prélevées au fond de la rivière le 20 juillet 1990)



Figure 4.6: Évolution de la diversité spécifique aux deux stations étudiées

Biomasse des microalgues et des cyanobactéries

Calculée à partir des concentrations en chlorophylle-*a*, la biomasse microalgale des communautés se développant en présence de l'effluent est, le plus souvent, supérieure à celle provenant des lames de la station en amont (figure 4.7). En effet, les valeurs moyennes de la biomasse microalgale, obtenues pour tous les prélèvements confondus, sont apparemment plus élevées à la station recevant l'effluent soit 4,9 (0,8 à 17,4 mg chl-*a*/m²) qu'à la station en amont soit 2,2 (0,2 à 5,8 mg chl-*a*/m²). Cependant, quelque soit l'étude considérée, ces valeurs ne sont pas significativement différentes (tableau 4.8).

Par ailleurs, à l'image des rivières québécoises ne drainant pas des terres agricoles, ces valeurs demeurent relativement faibles (MEF, 1992).

De façon générale, la biomasse microalgale à la station A est très peu variable pour les prélèvements réalisés en 1989, 1991 et 1993. En 1990, la biomasse observée à cette station augmente du premier au dernier prélèvement.

Les valeurs de la biomasse microalgale à la station B sont nettement plus variables qu'à la station A. En 1989, cette biomasse s'élève depuis le premier jusqu'au dernier prélèvement, alors qu'en 1991 et en 1993, c'est une évolution inverse qui est observée. En 1990, la valeur maximale de biomasse est mesurée après quatre semaines de colonisation, soit le 23 juillet. Après cette date, une baisse sensible mais non significative de la biomasse est enregistrée à la station B.

Enfin, les valeurs de biomasse microalgale obtenues à partir des échantillonneurs transférés d'une station à l'autre sont sensiblement identiques aux valeurs de biomasse observées à la nouvelle station (tableau 4.8).



Figure 4.7: Évolution de la biomasse microalgale périphytique pour les quatre années d'étude (] écart-type)
4.2.2.3 Biomasse périphytique totale (ADP et ATP)

L'évolution spatiale et temporelle de la biomasse totale calculée à partir des nucléotides adényliques (ATP et ADP) est présentée à la figure 4.8. En 1989 et 1991, la biomasse observée à la station A varie peu au cours du temps. En 1989, les valeurs de biomasse totale sont systématiquement plus élevées à la station B qu'à la station A, alors qu'en 1991, à l'exception du dernier prélèvement, ces valeurs sont à peu près équivalentes d'une station à l'autre (tableau 4.8).

En 1990, la biomasse totale est nettement plus variable. Elle fluctue de 161 ± 8 à 324 ± 130 mg C/m² pour la station A et de 156 ± 19 à 740 ± 139 mg C/m² pour la station B. Cependant, elle ne diffère pas significativement d'une station à l'autre.

Le transfert des échantillonneurs se traduit dans un premier temps, par l'observation de valeurs de biomasse totale plus faibles pour les échantillons transférés depuis l'amont vers l'aval par rapport à la station d'origine. Par la suite, la biomasse totale est similaire pour les deux échantillonneurs pour une même station (tableau 4.8).

Finalement, l'importance relative de la biomasse microalgale par rapport à la biomasse totale (figure 4.9) est généralement plus élevée à la station en aval qu'à la station en amont (tableau 4.8).

4.2.3 Évolution du fonctionnement des communautés périphytiques

Assimilation photoautotrophe

Quelque soit le prélèvement considéré, les communautés périphytiques se développant à la station B sont caractérisées par une activité photoautotrophe équivalente (différence non



Figure 4.8: Évolution de la biomasse totale calculée à partir des nucléotides adényliques (ATP et ADP) (] écart-type)



Figure 4.9: Évolution du rapport biomasse microalgale/biomasse totale pour les études de 1989, 1990 et 1991

significative à p > 0,05 en 1989 et 1990) ou plus élevée (différence significative à p \leq 0,05 en 1991) qu'à la station A (figure 4.10 et tableau 4.9). Les valeurs moyennes pour l'ensemble des prélèvements sont 0,22 (0,16 à 0,51 mg C/h/m²) et 0,77 (0,73 à 2,47 mg C/h²m) respectivement, à la station en amont et à la station en aval. Ces valeurs de production primaire sont typiques des milieux oligotrophes (Wetzel, 1964) et de plusieurs rivières naturelles du Québec (MEF, 1992).

Alors qu'à la station A, les valeurs d'assimilation photoautotrophe varient peu, l'activité photosynthétique mesurée à la station B, en 1989 et 1991, augmente entre le premier et le dernier prélèvement. De façon identique à la biomasse microalgale, l'activité photoautotrophe atteint en 1990 une valeur maximale bien avant la fin de la série de prélèvements. En 1989 et 1990 cette relation entre la biomasse microalgale et l'activité photoautotrophe à la station A est hautement significative (en 1989 $R_s = 0.99$; p<0,001 et en 1990 $R_s = 0.89$; p<0,01). Par contre, pour la période d'échantillonnage intensif de 1991 (durée 5 jours) cette relation disparaît ($R_s = 0.05$; p>0,05). À la station B, la relation entre la biomasse microalgale et l'activité photoautotrophe est absente en 1989 ($R_s = 0.40$; p>0,05) et 1990 ($R_s = 0.37$; p>0,05) alors qu'elle est négative en 1991 ($R_s = -0.90$; p<0,05).

Exprimée par unité de chlorophylle-*a* (figure 4.11), l'évolution de l'efficience photosynthétique observée à la sation en aval est à peu près équivalente à celle de la station témoin (tableau 4.9). Les valeurs moyennes pour l'ensemble des prélèvements sont 0,10 (0,03 à 0,29 mg C/m²/h/mg Chl-*a*/m²) et 0,10 (0,04 à 0,25 mg C/m²/h/mg Chl-*a*/m²), respectivement à la station en amont et à la station en aval, en excluant les valeurs extrêmes observées les 11 et 12 juillet 1991 à la station B. Cependant, ces valeurs d'efficience photosynthétique demeurent relativement faibles par rapport aux valeurs observées dans plusieurs rivières coulant sur le Bouclier canadien (Peterson *et al.*, 1986).





Tableau 4.9: Niveau de signification du test «*t*» pour données appariées pour les variables de fonctionnement des communautés périphytiques associées à l'assimilation du carbone inorganique dissous (station en amont (A) et station en aval (B) en 1989, 1990, 1991 et 1993 ; valeurs significatives en caractère gras pour $p \le 0.05$).

		Assimilation	A. photoautotrophe		Incorporation du ca	arbone inorganique ²	
		photoautotrophe	/ biomasse microalgale	Lipides	C.f.p.m. ¹	Polysaccharides	Protéines
1989	A - B	0,1656	0,5119	0,6638	0,2466	0,8620	0,6482
1990	А -В	0,0652	0,2357	0,2910	0,0033	0,0579	0,0285
	A transposé - B	0,8358	0,7029	0,1829	0,0923	0,9217	0,8713
	B transposé - A	0,8787	0,8723	0,8039	0,0549	0,8712	0,2193
1991	A - B	0,0390	0,2191	0,8132	0,2776	0,6183	0,1388
(cycle nycthéméral)	А -В	0,0283	0,0169	0,6685	0,0966	0,1423	0,0111
1993	A - B	0,3951	0,9788				
1989 - 1990	Station A Station B	0,0730 0,2143	0,1048 0,3010	0,4782 0,2789	0,6177 0,3524	0,1135 0,0649	0,3785 0,6283
1990 - 1991 1991 - 1993	Station A Station B Station A	0,0039 0,0398 0,4375	0,1869 0,3252	0,3208 0,3415	0,2571 0,7075	0,2329	0,3077 0,1350
	Station B	0,5333	0,1547				

¹Composés de faible poids moléculaire

² À noter: les tests statistiques ont été réalisés sur les données absolues et non pas sur les données relatives (pourcentage)



Figure 4.11: Évolution de l'efficience photosynthétique (assimilation autotrophe /biomasse microalgale) pour les études réalisées en milieu naturel

Les communautés transposées d'une station à l'autre présentent un affaiblissement marqué de l'activité photoautotrophe (figure 4.10) et de l'efficience photosynthétique (figure 4.11) lors de la première mesure suivant la transposition, mais présentent, par la suite, des valeurs à peu près équivalentes aux valeurs enregistrées à la nouvelle station (tableau 4.9).

Au cours du cycle nycthéméral, les mesures d'assimilation photoautotrophe et d'efficience photosynthétique suivent une évolution typique avec des valeurs d'assimilation et d'efficience élevées lors des périodes maximales d'ensoleillement (figure 4.12). Les mesures effectuées à la station située en aval du rejet sont significativement plus élevées qu'à l'amont (tableau 4.9).

Incorporation du carbone inorganique

Pour l'ensemble des études hebdomadaires (figures 4.13 et 4.14), quotidienne (figure 4.15) et nycthémérale (figure 4.16) l'incorporation du carbone inorganique se fait, en moyenne, préférentiellement dans les lipides (M= 31%; valeurs extrêmes: 11 à 52%), puis dans les protéines (M= 28%; valeurs extrêmes: 14 à 47%), puis dans les composés de faible poids moléculaire (M= 23%; valeurs extrêmes: 12 à 36%) et, enfin, dans les polysaccharides (M= 18%; valeurs extrêmes: 9 à 28%).

Pour l'étude réalisée en 1989, l'évolution de l'incorporation du carbone inorganique dans les macromolécules est similaire aux stations A et B avec, notamment, une importante augmentation de l'incorporation dans les protéines lors de la dernière série de prélèvements (tableaux 4.9 et 4.10).

Pour l'échantillonnage réalisé en 1990 (figure 4.14), l'incorporation du carbone inorganique suit une évolution à peu près parallèle pour les deux stations. Cependant, l'allocation de la radioactivité est plus élevée dans les composés de faible poids moléculaires (M=30%; valeurs



Figure 4.12: Évolution nycthémérale de l'assimilation autotrophe et de l'efficience photosynthétique (] écart-ype)



Figure 4.13: Pourcentages d'incorporation du carbone inorganique dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) pour l'étude en 1989



Figure 4.14: Pourcentages d'incorporation du carbone inorganique dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) pour l'étude de 1990



Figure 4.15: Pourcentages d'incorporation du carbone inorganique dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) pour l'étude de 1991



Figure 4.16: Pourcentages d'incorporation du carbone inorganique dans les macromolécules macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) au cours du cycle nycthéméral

		Lipides (%)		Composés de faible poids moléculaire (%)		Polysaccharides (%)			Protéines (%)				
		М	MIN	MAX	М	MIN	MAX	М	MIN	MAX	М	MIN	MAX
1989	Station A	27	4	51	19	8	30	37	24	55	18	2	48
	Station B	24	10	37	21	9	29	35	15	57	19	6	58
1990	Station A	35	1	66	16	8	23	18	6	29	32	1	53
	Station B	44	12	74	30	18	43	10	4	21	16	4	31
1991	Station A	32	26	39	19	16	23	10	8	12	39	33	47
	Station B	35	6	58	28	13	53	11	6	19	26	17	46

Tableau 4.10: Pourcentages d'incorporation moyens (M), minimaux (MIN) et maximaux (MAX) du carbone inorganique dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) pour les trois années d'étude en milieu naturel.

extrêmes: 8 à 43%) à la station en aval qu'à la station en amont (M=16%; valeurs extrêmes: 8 à 23%). Inversement, l'incorporation dans les protéines est nettement plus élevée (tableaux 4.9 et 4.10) à la station en amont (M=32%; valeurs extrêmes: 1 à 53%) qu'à la station en aval (M=16%; valeurs extrêmes: 4 à 31%).

Quant aux échantillons transposés (figure 4.14), ils présentent une incorporation du carbone inorganique dans les macromolécules différente de celle des stations d'origine mais très proche de celle des nouvelles stations (tableaux 4.9 et 4.10).

Lors de l'étude réalisée en 1991 (figure 4.15), nous n'avons noté aucune variation significative de l'incorporation du carbone inorganique dans les différentes fractions macromoléculaires (tableaux 4.9 et 4.10) et ce, malgré de très faibles valeurs d'incorporation dans la fraction lipidique le 08-07 et le 11-07.

Enfin, l'évolution nycthémérale de l'incorporation du carbone inorganique dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire laisse apparaître, à la station B, une variabilité nycthémérale avec une élévation de l'incorporation dans les protéines et les lipides à l'aube et au crépuscule (figure 4.16).

Assimilation photohétérotrophe et chémohétérotrophe

Les résultats présentés à la figure 4.17 mettent en lumière une faible variabilité temporelle de l'assimilation photohétérotrophe du mélange d'acides aminés lors de l'étude de 1989. Ainsi, les valeurs varient de 0,010 à 0,030 mg C/h/m² ($M = 0,02 \pm 0,01$ mg C/h/m²) pour la station A, alors qu'à la station B ces valeurs fluctuent entre 0,02 et 0,050 mg C/h/m² ($M = 0,04 \pm 0,01$ mg C/h/m²). Cependant, exprimée (figure 4.18) ou non (figure 4.17) en fonction de la biomasse totale, l'assimilation photohétérotrophe est significativement plus élevée à la station en aval par rapport à la station en amont (tableau 4.11).



Figure 4.17: Évolution de l'assimilation photohétérotrophe pour les quatre années d'étude (1989: substrat = acides aminés; 1990, 1991 et 1993: substrat=glucose) (] écart-type)



Figure 4.18: Évolution de l'assimilation photohétérotrophe/biomasse totale (ADP+ATP) pour les quatre années d'étude (1989: substrat = acides aminés; 1990, 1991 et 1993: substrat=glucose)

Tableau 4.11: Niveau de signification du test «t» pour données appariées pour les variables de fonctionnement des communautés périphytiques associées à l'assimilation du substrat organique marqué (station en amont (A) et station en aval (B) en 1989, 1990, 1991 et 1993 ; valeurs significatives en caractère gras pour p ≤ 0,05).

		Assimilation	Incorpor après	ation du subs assimilation	trat organiqu photohétéroti	e marqué rophe⁵	A. photohétérotrophe	A.	
		photoneterotrophe	Lip.1	C.f.p.m. ²	Polys. ³	Prot. ⁴	/ biomasse totale	chemoneterotrophe	
1989	A - B	0,0267	0,7388	0,6027	0,3461	0,0355	0,0318	0,6986	
1990	A -B	0,0436	0,7117	0,5147	0,5306	0,8012	0,0228	0,9467	
	A transposé - B	0,5766	0,2296	0,5620	0,3314	0,7217	0,3416	0,0867	
	B transposé - A	0,7278	0,3266	0,4814	0,9231	0,1340	0,4557	0,4492	
1991	A - B	0,0420	0,4006	0,5064	0,0503	0,2780	0,0474	0,3743	
(cycle nycthéméral)	А -В	0,0462	0,2767	0,2121	0,0889	0,6575	0,0205	0,9467	
1993	A - B	0,6612						0,0921	
1989 - 1990	Station A	0,2533	0,7040	0,7131	0,2054	0,2489	0,0119	0,0640	
1000 1001	Station B	0,5028	0,6271	0,4895	0,4340	0,4379	0,1817	0,1900	
1990 - 1991	Station B	0,0918	0,0519	0,3322	0,4517	0,2791	0.1273	0,2103	
1991 - 1993	Station A	0.3537	0,5155	0,5207	0,1070	0,7019	0,1275	0.9731	
	Station B	0,1334						0,1834	

¹ Lipides; ² Composés de faible poids moléculaire; ³ Polysaccharides; ⁴ Protéines

⁵ À noter: les tests statistiques ont été réalisés sur les données absolues et non pas sur les données relatives (pourcentage)

L ors des études réalisées en 1990 et 1991, les résultats d'assimilation photohétérotrophe du glucose, déterminés et exprimés (figure 4.18) ou non (figure 4.17) en fonction de la biomasse totale, laissent apparaître une variabilité temporelle plus importante à la station en aval qu'à la station témoin. De même, quelle que soit l'étude considérée, l'activité photohétérotrophe (exprimée ou non en fonction de la biomasse totale) est toujours significativement plus élevée à l'aval de l'effluent qu'à l'amont (tableau 4.11). Sans être significative, on note cette même tendance en 1993.

Par ailleurs, le transfert des échantillonneurs entre l'aval et l'amont n'entraine pas de variations significatives des valeurs d'assimilation photohétérotrophe ou du rapport d'assimilation photohétérotrophe/biomasse totale par rapport aux valeurs correspondant aux nouvelles stations (tableau 4.11).

L'évolution des mesures d'assimilation photohétérotrophe, effectuées selon un cycle journuit de 36 heures (figure 4.19), présente une importante variabilité nycthémérale avec des valeurs nulles pendant la période d'obscurité et des valeurs significativement plus élevées à la station B de part et d'autre du midi solaire, mais également à l'aube et au crépuscule (tableau 4.11).

Enfin, quel que soit l'étude considérée, l'assimilation chémohétérotrophe (figure 4.20), se caractérise par une faible (non significative; p > 0,05) variabilité temporelle et spatiale (tableau 4.11). Pour l'ensemble des résultats, l'assimilation photohétérotrophe représente en moyenne 27% (3 à 54%) et 41% (14 à 83%), respectivement à la station en amont et à la station en aval, de l'assimilation hétérotrophe totale.



Figure 4.19: Évolution nycthémérale de l'assimilation photohétérotrophe (substrat=glucose) (] écart-type)



Figure 4.20: Évolution de l'assimilation chémohétérotrophe pour les quatre années d'étude (1989: substrat = acides aminés; 1990, 1991 et 1993: substrat=glucose) (] écart-type)

Incorporation de la radioactivité associée au substrat organique dans les macromolécules

Pour les deux stations confondues, l'incorporation de la radioactivité du mélange d'acides aminés (figure 4.21) se fait préférentiellement dans les polysaccharides (M =36%; valeurs extrêmes: 15% et 64% de l'incorporation totale) et dans les protéines (M = 29%; valeurs extrêmes: 5% et 63%), dans les composés de faible poids moléculaire (M = 22%; valeurs extrêmes: 5% et 35%), enfin, dans les lipides (M = 13%; valeurs extrêmes: 4% et 25%). Si, en 1989, l'allocation de la radioactivité varie peu dans le temps à la station A, il n'en est pas de même à la station B. À cette station on note, pour le dernier prélèvement (18 juillet), une très nette augmentation de l'incorporation dans les protéines au détriment, principalement, de l'incorporation dans les composés de faible poids moléculaire (tableau 4.12).

Pour l'étude de 1990 et pour les deux stations confondues, l'incorporation de la radioactivité associée au glucose (figure 4.22) se fait préférentiellement dans les protéines (M = 43%; valeurs extrêmes: 11% et 62% de l'incorporation totale) puis dans les polysaccharides (M = 27%; valeurs extrêmes: 17% et 45%), dans les composés de faible poids moléculaire (M = 19%; valeurs extrêmes: 7% et 29%), enfin, dans les lipides (M = 12%; valeurs extrêmes: 3% et 23%). De la même façon que pour l'assimilation photosynthétique, l'évolution temporelle de l'allocation dans les différentes fractions moléculaires est essentiellement identique pour les deux stations (tableau 4.12).

Comme pour l'incorporation du carbone inorganique, l'allocation de la radioactivité liée au substrat organique n'est pas significativement différente pour les échantillons ayant été transférés d'une station à l'autre (tableau 4.12).

Par ailleurs, lors de mesures quotidiennes de l'allocation de la radioactivité associée au glucose (1991), l'incorporation se fait, pour les deux stations, préférentiellement dans les protéines (M = 50%; valeurs extrêmes: 27% et 61% de l'incorporation totale) à l'exception



Figure 4.21: Pourcentages d'incorporation de la radioactivité liée au substrat organique (acides aminés) dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) (étude de 1989)

Tableau 4.12: Pourcentages d'incorporation moyens (M), minimaux (MIN) et maximaux (MAX) de la radioactivité liée au carbone organique dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) pour les trois années d'étude en milieu naturel.

		Lipides (%)		Composés de faible poids moléculaire (%)			Polysaccharides (%)			Protéines (%)			
		М	MIN	MAX	М	MIN	MAX	М	MIN	MAX	М	MIN	MAX
1989	Station A	10	4	21	21	6	32	43	35	64	27	24	32
	Station B	16	8	25	24	5	35	29	15	41	31	5	63
1990	Station A	11	5	22	18	12	26	28	17	45	43	11	62
	Station B	12	3	23	20	7	29	25	17	35	42	27	62
1991	Station A	3	2	4	20	15	25	24	21	26	53	46	61
	Station B	6	1	16	16	9	27	32	25	39	46	27	60



Figure 4.22: Pourcentages d'incorporation de la radioactivité liée au substrat organique (glucose) dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) (étude de 1990)

du prélèvement du 11 juillet (figure 4.23). Les incorporations dans les polysaccharides (M = 28%; valeurs extrêmes: 21% et 39%), dans les composés de faible poids moléculaire (M = 18%; valeurs extrêmes: 9% et 27%) et dans les lipides (M = 5%; valeurs extrêmes: 1% et 16%) sont, en moyenne, plus faibles que dans les protéines.

Enfin, l'évolution de l'incorporation de la radioactivité associée au substrat organique dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire, au cours d'un cycle de 36 heures, est caractérisée par une faible variabilité nycthémérale à la station B, avec une faible élévation de l'incorporation dans les lipides en période de fortes intensités lumineuses. À la station A, cette évolution est encore moins marquée (figure 4.24).

Assimilation des précurseurs radioactifs chez les espèces isolées

En plus des valeurs globales d'assimilations photosynthétique et photohétérotrophe pour l'ensemble de la communauté périphytique, nous avons évalué les capacités photosynthétiques et photohétérotrophes d'une espèce croissant majoritairement à la station en amont, à savoir *Tabellaria flocculosa*, et d'une autre qui a dominé la communauté microalgale se développant à la station en aval, soit *Cymbella ventricosa*. Ainsi, les mesures d'assimilation des précurseurs radioactifs sur chacune de ces espèces (figure 4.25) mettent en lumière les capacités photosynthétiques et photohétérotrophes significativement plus élevées ($p \le 0,01$) pour l'espèce prélevée à la station en aval du rejet de l'effluent, soit *C. ventricosa* (respectivement 8 100 et 560 pg C/h/m² en valeurs moyennes pour les assimilations photosynthétique et photohétérotrophe) que pour *T. flocculosa* (respectivement 860 et 50 pg C/h/m²) qui est l'espèce dominante de la station en amont. Les résultats du comptage cellulaire réalisé après marquage en microautoradiographie de ces deux espèces et des diatomées *Achnanthes minutissima* et *Cocconeis placentula* sont présentés dans le tableau 4.13. Environ 250 à 500 cellules ont été observées afin de mettre en évidence la présence ou



Figure 4.23: Pourcentages d'incorporation de la radioactivité liée au substrat organique (glucose) dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) (étude de 1991)



Figure 4.24: Pourcentages d'incorporation de la radioactivité liée au substrat organique (glucose) dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) au cours d'un cycle nycthéméral



Figure 4.25: Valeurs d'assimilation photoautotrophe et photohétérotrophe pour des cellules de *Tabellaria flocculosa* et *Cymbella ventricosa* qui ont été isolées à partir des communautés microalgales périphytiques prélevées, respectivement, en amont et en aval du rejet de l'effluent

Tableau 4.13: Nombre de cellules marquées et non marquées chez les espèces isolées des communautés microalgales périphytiques prélevées en amont et en aval du rejet de l'effluent.

		Station	en amont	Station en aval		т	DTAL
		19-07- 93	26-07-93	19-07-93	26-07-93	Nombre	% marquée
Tabellaria flocculosa	non marquée	300	203			503	
	marquée	35	30			65	11
Achnanthes minutissima	non marquée	138	65			203	
	marquée	0	0			0	0
Cymbella ventricosa	non marquée			10	6	16	
~	marquée			280	110	390	96
Cocconeis placentula	non marquée			19	8	27	
-	marquée			202	118	320	92
TOTAL		473	298	511	242	1524	

l'absence de traces radioactives liées à l'assimilation du substrat organique marqué au tritium. À la station en amont, 568 cellules de l'espèce *T. flocculosa* ont été observées dont 503 se sont avérées non marquées (89%) alors que les 203 cellules de *A. minutissima* observées ne montraient aucune trace radioactive. Par contre, pour les espèces isolées à partir de la communauté de la station en aval, la majorité des cellules se sont avérées marquées avec 390 cellules marquées sur 406 observées (96%) pour *C. ventricosa* et 320 cellules sur 347 (92%) pour *C. placentula*. Ces observations sont en accord avec les résultats des études microautoradiographiques réalisées en 1989: aucune trace d'émission associée à la radioactivité n'a pu être mise en évidence chez les deux espèces dominantes de la station témoin (figure 4.26), alors que de telles traces étaient émises par *C. placentula* et *C. ventricosa*, espèces dominantes des communautés microalgales périphytiques se développant à la station située immédiatement en aval de l'effluent.



Figure 4.26: Microautoradiographie de cellules microalgales après assimilation photohétérotrophe. Traces émises par Cymbella ventricosa (A) et Cocconeis placentula (B). Absence de trace chez Tabellaria flocculosa (C) et Achnanthes minutissima (D).

4.3 ÉTUDES EN CANAUX EXPÉRIMENTAUX

4.3.1 Évolution des caractéristiques physico-chimiques et biologiques des eaux surnageantes

L'ajout d'effluent dans les canaux en 1990 et 1991, se traduit par un apport important en carbone organique dissous pour le canal le plus chargé en effluent (10% v/v) (différence hautement significative par rapport au canal témoin) alors que l'on note qu'une légère augmentation pour les canaux à 0,5% et 2,5% (v/v) (figure 4.27). En 1991, ces valeurs tendent à diminuer du premier au dernier prélèvement dans le cas du canal 10% (v/v). Par ailleurs, la présence de l'effluent engendre une augmentation de la concentration en silice (tableaux 4.14 et 4.15). De plus, on observe une augmentation significative de la turbidité et de la conductivité en fonction de la concentration en l'effluent.

Les concentrations croissantes d'effluent se traduisent aussi, au niveau de l'eau surnageante, par des densités bactériennes maximales dans le canal 10% (v/v) (figure 4.28). Malgré un apport sensiblement constant en effluent pur, on observe une légère baisse de la densité bactérienne à la fin des expériences.

De façon générale, les caractéristiques physico-chimiques et biologiques mesurées dans les canaux en 1991 sont semblables à celles observées en 1990, à l'exception du phosphore total dont la concentration est significativement plus élevée dans tous les canaux (tableau 4.16).



Figure 4.27: Concentrations en carbone organique dissous dans les quatre canaux expérimentaux

		Moyenne (écart-type)					Test «t pour données appariées		
Variable	Unité						Canal 0% - canal 10%		
		Canal 0%	Canal 0,5%	Canal 2,5%	Canal 10%	N	t	р	
Conductivité	μ Siemens	23 (-)	21 (-)	23 (-)	26 (-)	6		-	
Intensité lumineuse (surface)	$\mu E/s/m$	50 (-)	50 (-)	50 (-)	50 (-)	6			
Oxygène dissous	mg/L	9,8 (0,1)	9,4 (0,1)	9,2 (-)	9,3 (-)	6			
рН		6,5 (0,1)	6,6 (0,2)	6,7 (0,2)	6,6 (0,1)	6			
Température	°C	21,8 (0,6)	21,8 (0,6)	21,8 (0,6)	21,8 (0,6)	6			
Turbidité	U.T.N.	0,4 (0,1)	0,5 (0,1)	1,3 (0,3)	2,5 (0,3)	6	-7,03	0,0009	
Azote total	mg/L	0,16 (0,05)	0,14 (0,06)	0,14 (0,03)	0,11 (0,03)	6	2,17	0,0826	
Azote ammoniacal	mg/L	0,02 (-)	0,03 (0,01)	0,02 (-)	0,02 (-)	6			
Nitrite-nitrate	mg/L	0,03 (0,02)	0,03 (0,01)	0,02 (-)	0,02 (-)	6	1	0,3632	
Phosphore total	mg/L	0,01 (-)	0,01 (-)	0,01 (-)	0,01 (-)	6			
Ortho-phosphate	mg/L	0,01 (-)	0,01 (-)	0,01 (-)	0,01 (-)	6			
C inorganique dissous	mg/L	4,0 (2,7)	2,9 (1,8)	3,2 (2,5)	4,2 (5,0)	6	-0,12	0,9126	
C organique dissous	mg/L	2,6 (0,3)	6,7 (0,6)	8,8 (1,4)	14,8 (0,7)	6	-4,99	0,0042	
Silice	mg/L	5,2 (0,4)	5,3 (0,3)	5,8 (0,1)	6,1 (0,2)	6	-4,49	0,0064	
Bactéries x 10 ³	U.F.C./mL	1,70 (1,75)	1,00 (1,00)	7,57 (7,08)	23,92 (9,85)	6	-1,01	0,0357	

Tableau 4.14: Caractéristiques physico-chimiques et biologiques des eaux surnageantes dans les quatre canaux expérimentaux en 1990 (valeurs significatives en caractère gras pour $p \le 0.05$).

		Moyenne (écart-type)					Test «t pour données appariées		
Variable	Unité						Canal 0% - canal 10%		
		Canal 0%	Canal 0,5%	Canal 2,5%	Canal 10%	N	t	p.	
Conductivité	μ Siemens	22,5 (2,7)	24,5 (2,9)	29,3 (2,7)	50,0 (4,0)	4	-12,20	0,0012	
Intensité lumineuse (surface)	μE/s/m	50 (-)	50 (-)	50 (́-)	50 (-)	4			
Oxygène dissous	mg/L	9,3 (-)	9,4 (0,1)	9,3 (0,1)	9,3 (-)	2			
pH		6,2 (0,2)	6,4 (0,2)	6,3 (0,1)	6,2 (0,2)	4	0,29	0,7888	
Température	°C	21,1(0,3)	21,1(0,3)	21,1(0,3)	21,1(0,3)	4			
Turbidité	U.T.N.	0,4 (0,1)	0,6 (0,1)	0,8 (-)	4,7 (0,4)	4	-6,97	0,0061	
Azote total	mg/L	0,16 (0,05)	0,14 (0,06)	0,14 (0,04)	0,11 (0,04)	4	6,24	0,0583	
Azote ammoniacal	mg/L	0,10 (-)	0,04 (-)	0,03 (0,01)	0,04 (0,01)	4	0,80	0,4837	
Nitrite-nitrate	mg/L	0,02 (-)	0,04 (-)	0,02 (-)	< 0,02	4	-1,00	0,3910	
Phosphore total	mg/L	0,07 (0,02)	0,06 (-)	0,06 (0,01)	0,08 (0,01)	4	-0,79	0,4860	
Ortho-phosphate	mg/L	0,02 (-)	< 0,02	< 0,02	< 0,02	4	1,00	0,3910	
C inorganique dissous	mg/L	1,1 (0,3)	1,0 (0,2)	1,1 (0,3)	1,5 (0,2)	4	-5,20	0,0139	
C organique dissous	mg/L	7,8 (0,2)	7,8 (0,2)	11,0 (1,0)	26,0 (3,1)	4	-12,55	0,0011	
Silice	mg/L	4,9 (-)	5,4 (0,2)	5,8 (0,2)	5,7 (0,3)	4	-4,00	0,0156	
Bactéries x 10 ³	U.F.C./mL	0,33 (0,46)	1,43 (2,26)	7,25 (6,41)	23,43 (4,83)	4	-2,35	0,0102	

Tableau 4.15: Caractéristiques physico-chimiques et biologiques des eaux surnageantes dans les quatre canaux expérimentaux en 1991 (valeurs significatives en caractère gras pour $p \le 0,05$).


Figure 4.28: Évolution de la densité bactérienne des eaux de surnageantes dans les quatre canaux expérimentaux

Tableau 4.16: Niveau de signification du test «*t*» pour données appariées pour les variables physico-chimiques entre les deux années d'étude en canaux expérimentaux ainsi qu'entre la station en amont (A) et le canal 0% (v/v) et entre la station en aval (B) et le canal 10% (v/v) en 1990 (valeurs significatives en caractère gras pour p $\le 0,05$).

			1990 -	- 1991	1990			
Variable	Unité	Canal 0%	Canal 0,5 %	Canal 2,5%	Canal 10%	Station A - canal 0%	Station B - canal 10%	
Conductivité	μSiemens							
Intensité lumineuse (surface)	$\mu \mathrm{E/s/m}$							
Oxygène dissous	mg/L		8 <u>-10-000</u>					
pH							- <u></u>	
Température	° C					0,0003	0,0121	
Turbidité	U.T.N.		0,3189	1,0000	0,0728	0,0913	0,0541	
Azote total	mg/L	0,1227	0,2884	0,0048	0,8361	0,2108	0,0037	
Azote ammoniacal	mg/L	0,3559	0,3910	0,2522	0,2522		0,2031	
Nitrite-nitrate	mg/L	0,2783	1,0000			0,6793	0,0000	
Phosphore total	mg/L	0,0093	0,0057	0,0006	0,0001		0,1747	
Ortho-phosphate	mg/L	0,3910					0,3632	
C inorganique dissous	mg/L	0,1063	0,1383	0,1963	0,3185	0,2830	0,5837	
C organique dissous	mg/L	0,2250	0,2246	0,1503	0,0537	0,0606	0,5314	
Silice	mg/L	0,5000	0,2048	1,0000	0,2048	0,0522	0,0000	
Bactéries x 10 ³	U.F.C./mL	0,1168	0,0260	0,0784	0,3601	0,0748	0,3301	

En comparaison avec la station témoin, les caractéristiques physico-chimiques et biologiques de l'eau surnageante du canal témoin en 1990 ne diffèrent que par une température moyenne plus élevée ($21,8 \pm 0,6$ °C et $18,3 \pm 1,4$ C respectivement en laboratoire et à la station amont).

Il n'en est pas de même pour le canal 10% où les concentrations en silice et en azote total, principalement sous la forme de nitrites et de nitrates, sont significativement moins élevées par rapport à celles observées à la station en aval. À l'image du canal témoin, la température moyenne des eaux circulant dans le canal 10% ($21,8 \pm 0,6$ °C) est supérieure à celle mesurée à la station B ($16,2 \pm 3,7$ °C).

Bien que la comparaison ne puisse être faite directement, compte tenu du pas d'échantillonnage et de la période d'expérimentation différents, les caractéristiques physicochimiques et biologiques de l'eau surnageante des canaux en 1991 diffèrent des stations correspondantes de la même manière que l'année précédente.

4.3.2 Évolution de la structure des communautés périphytiques

4.3.2.1 Bactéries hétérotrophes périphytiques

Lors de l'étude de 1990, la densité bactérienne est, à l'exception du dernier prélèvement, toujours légèrement plus élevée dans le canal 10% que dans le autres canaux (figure 4.29). Il faut cependant remarquer que ces différences (testées à partir des valeurs logarithmiques) ne sont pas statistiquement significatives (tableau 4.17) et que l'abondance bactérienne est fréquemment plus faible dans les canaux 0,5 et 2,5% que dans le canal témoin. Les densités maximales sont atteintes dès la deuxième série de prélèvements, puis elles diminuent régulièrement jusqu'à la fin de l'expérimentation. Enfin, la densité bactérienne est plus



Figure 4.29: Évolution de la densité bactérienne périphytique pour les quatre canaux expérimentaux

Tableau 4.17: Niveau de signification du test «t» pour données appariées pour les variables de structure des communautés périphytiques se développant dans les canaux expérimentaux en 1990 et 1991 (valeurs significatives en caractère gras pour $p \le 0.05$).

	Canal	Densité	С	omposition spécif	ique ²	Diversité	Biomasse	Biomasse	Biomasse microalgale	
	Callar	bactérienne ¹	Diatomées	Cyanophycées	Chlorophycées	2 Diversité spécifique Biomasse microalgale Biomasse totale 0,3375 0,8129 0,7660 0,970 0,3375 0,8129 0,7660 0,970 0,7709 0,2379 0,0093 0,370 0,1214 0,9246 0,2306 0,339 0,0489 0,6858 0,0733 0,881 0,1503 0,1559 0,2199 0,087 0,3003 0,3886 0,2562 0,761 0,8783 0,8433 0,4690 0,497 0,0472 0,2870 0,1815 0,912 0,2514 0,0539 0,5978 0,986 0,0978 0,8690 0,3590 0,369 0,5789 0,4819 0,2776 0,356	totale	/ biomasse totale		
1990	0% - 0,5%	0,1888	0,3781	0,2586	0,3375	0,8129	0,7660	0,9709	0,8464	
	0,5% - 2,5%	0,9886	0,0749		0,7709	0,2379	0,0093	0,3700	0,0706	
	2,5% - 10%	0,3399	0,2306		0,1214	0,9246	0,2306	0,3399	0,3560	
	0% - 10%	0,3573	0,0352	0,0259	0,0489	0,6858	0,0733	0,8814	0,5756	
1991	0% - 0,5%	0,2278	0,1434	0,4198	0,1503	0,1559	0,2199	0,0874	0,2725	
	0,5% - 2,5%	0,2542	0,0371	0,0452	0,3003	0,3886	0,2562	0,7613	0,8542	
	2,5% - 10%	0,7116	0,4690	0,0505	0,8783	0,8433	0,4690	0,4971	0,1636	
	0% - 10%	0,0573	0,0398	0,0073	0,0472	0,2870	0,1815	0,9127	0,3012	
1990 - 1991	Canal 0% Canal 0,5% Canal 2,5 % Canal 10%	0,0176 0,1520 0,1293 0,0050	0,0056 0,0219 0,0111 0,0013	0,6589 0,5689 0,6874 0,5556	0,2514 0,0896 0,0978 0,5789	0,0539 0,7264 0,8690 0,4819	0,5978 0,0408 0,3590 0,2776	0,9867 0,0548 0,3690 0,3569	0,6180 0,1353 0,7457 0,1943	
1990	Station A - canal 0% Station B - canal 10%	0,0135 0,0106	0,0926 0,6670	0,0989 0,0878	0,0568 0,0667	0,5858 0,9485	0,3091 0,0266	0,0009 0,1955	0,9280 0,0069	

¹ Densité bactérienne du périphyton
² À noter: les tests statistiques ont été réalisés sur les données absolues et non pas sur les données relatives (pourcentage)

élevée dans le canal témoin (entre 0,11 x 10^9 U.F.C./m² et 2,34 x 10^9 U.F.C./m³) qu'à la station en amont (entre 0,01 x 10^9 U.F.C./m² et 0,72 x 10^9 U.F.C./m²) alors qu'à l'inverse elle est plus faible dans le canal 10% (entre 0,27 x 10^9 U.F.C./m² et 2,77 x 10^9 U.F.C./m²) par rapport à la station en aval (entre 0,28 x 10^9 U.F.C./m² et 52,00 x 10^9 U.F.C./m²).

Lors des expériences menées en 1991, les densités bactériennes sont, de façon générale, plus faibles que celles observées en 1990. Bien que l'abondance bactérienne soit systématiquement plus élevée dans le canal 10% que dans le canal témoin (sans toutefois être statistiquement différente), les densités maximales sont enregistrées dans le canal 0,5%.

4.3.2.2 Communauté microalgale

Composition spécifique

De façon très nette, la communauté microalgale se développant dans les quatre canaux après deux semaines de colonisation lors de l'étude de 1990 est dominée par les diatomées qui représentent entre 67% et 99% de l'abondance totale (figure 4.30). Les espèces microalgales les mieux représentées de cette classe sont, sans conteste, *Achnanthes minutissima* et *Tabellaria flocculosa*. Ces deux espèces sont accompagnées d'*Achnanthes linearis*, de *Navicula* sp. et de *Synedra ulna* dans les trois canaux les moins chargés en effluent et de *C. ventricosa* et *C. placentula* dans le canal 10%. Cependant, l'importance relative des diatomées diminue légèrement avec l'apport croissant en effluent alors, qu'à l'inverse, celle des chlorophycées, dont les principales espèces sont *Actinastrum hantzschii, Ulothrix* sp. et *Cladophora* sp., augmente avec des valeurs maximales pour cette classe de microalgues de 11% dans le canal témoin, 12% dans le canal 0,5%, 32% dans le canal 2,5% et 33% dans le canal 10% (tableau 4.17).





Lors des expériences réalisées en 1991, la communauté microalgale périphytique est également dominée par les diatomées et les chlorophycées quel que soit le canal considéré (figure 4.31). Cependant, cette dominance est significativement moins marquée qu'en 1990 (tableau 4.17) avec une contribution relative des cyanobactéries, représentées essentiellement par *Synechococcus lineare, Mycrocystis* sp. et *Anabaena* sp., beaucoup plus importante dans les canaux 2,5 et 10% que dans les deux autres canaux.

L'importance relative des diatomées diminue très nettement avec l'apport croissant en effluent puisqu'elle représente en moyenne 70%, 58%, 28% et 22% de l'abondance totale, respectivement, dans le canal témoin, le canal 0,5%, le canal 2,5% et le canal 10% (tableau 4.17). Les espèces dominantes de cette classe dans les quatre canaux sont *A. minutissima* et *T. flocculosa* qui sont accompagnées, dans le canal 10%, de *Cymbella ventricosa* et *Cocconeis placentula*. À l'inverse, l'importance relative des cyanophycées et des chlorophycées augmente avec les concentrations croissantes en effluent. La prépondérance des chlorophycées dans le canal le plus chargé en effluent est liée, en très grande partie, au développement d'une seule espèce, *Actinastrum hantzchii*.

Par ailleurs, dans le canal témoin et pour les canaux 0,5% et 2,5%, on observe une succession d'espèces dans le temps caractérisée par une importante croissance des diatomées par rapport aux chlorophycées. Inversement, dans le canal 10%, il y a une augmentation de l'importance relative des chlorophycées dès le deuxième prélèvement qui demeure sensiblement identique par la suite.

Globalement, la composition spécifique des communautés microalgales se développant en laboratoire et en milieu naturel se caractérise par la dominance très nette des diatomées. Cependant, la prépondérance de *C. ventricosa* et de *C. placentula* observée à la station située





dans la zone de mélange n'est pas notée dans les canaux chargés en effluent. Par contre, ces espèces co-dominent, avec *A. minutissima* et *T. flocculosa*, la communauté périphytique se développant dans le canal 10%.

Par ailleurs, on note une plus faible représentation des cyanophycées et des chlorophycées dans les canaux par rapport aux stations correspondantes en rivière.

Diversité spécifique

Pour les trois premières séries de prélèvements de l'étude réalisée en 1990, la diversité spécifique est, en général, plus élevée dans les canaux recevant l'effluent que dans le canal témoin, bien qu'elle ne soit pas statistiquement différente d'un canal à l'autre. La diversité atteint 1,42 bits/cellule dans le canal 10% alors qu'elle demeure inférieure à 1,48 bits/cellule dans le canal témoin. À la fin de l'expérience, on observe, cependant, une légère élévation de la diversité spécifique dans le canal témoin alors que la diversité spécifique dans les trois autres canaux est, en général, inférieure (figure 4.32).

Globalement, les indices de diversité moyens observés dans le canal témoin $(1,29 \pm 0,16)$ bits/cellule) et dans le canal 10% $(1,25 \pm 0,10)$ bits/cellule) ne sont pas significativement différents de ceux notés à la station en amont $(1,28 \pm 0,35)$ bits/cellule) et à la station en aval $(1,01 \pm 0,19)$ bits/cellule).

L'évolution spatiale et temporelle de la diversité spécifique observée lors de l'étude de 1991 est sensiblement semblable à celle de l'année précédente. En effet, les valeurs enregistrées dans ce canal témoin ne sont pas, en général, plus élevées que dans les trois autres canaux avec une diversité variant de 0,98 à 1,48 bits/cellule. Dans les canaux recevant l'effluent, la diversité spécifique varie de 0,93 à 1,38 bits/cellule.



Figure 4.32: Évolution de la diversité spécifique dans les quatre canaux expérimentaux

Biomasse des microalgales et des cyanobactéries

Lors de l'étude réalisée en 1990, la biomasse des microalgues et des cyanobactéries, calculée à partir des concentrations en chlorophylle-*a*, n'est pas statistiquement différente entre le canal témoin et les canaux chargés en effluent, à l'exception du canal 2,5% dont la biomasse microalgale est significativement inférieure au canal témoin et au canal 0,5%. En effet, les valeurs moyennes sont $1,24 \pm 0,52$, $1,21 \pm 0,51$, $0,50 \pm 0,18$ et $0,73 \pm 0,44$ mg chl-*a*/m², respectivement pour le canal témoin, le canal 0,5%, le canal 2,5% et le canal 10% (tableau 4.17).

De façon globale, cette biomasse tend à augmenter au cours des quatre premières séries de prélèvements puis se stabilise par la suite (figure 4.33).

La biomasse moyenne des microalgues et des cyanobactéries, lors de l'étude effectuée en 1991, est plus élevée dans le canal témoin ($M = 1,49 \pm 1,03 \text{ mg chl}-a/m^2$) que dans les autres canaux recevant de l'effluent ($M_{0,5\%} = 0,38 \pm 0,25$, $M_{2,5\%} = 0,28 \pm 0,26$, $M_{10\%} = 0,28 \pm 0,23$ mg chl- a/m^2) bien que, testées statistiquement, ces valeurs ne soient pas différentes d'un canal à l'autre (tableau 4.17). Par ailleurs, cette biomasse augmente très régulièrement depuis le début jusqu'à la fin de l'expérience, quel que soit le canal considéré.

Finalement, les valeurs de biomasse microalgale observées dans le canal témoin en 1990 $(1,24 \pm 0,52 \text{ mg chl-}a/\text{m}^2)$ sont comparables à celles notées à la station en amont $(2,06 \pm 2,01 \text{ mg chl-}a/\text{m}^2)$ alors qu'elles sont nettement inférieures dans le canal 10% $(0,73 \pm 0,44 \text{ mg chl-}a/\text{m}^2)$ qu'à la station en aval $(2,54 \pm 1,43 \text{ mg chl-}a/\text{m}^2)$.



Figure 4.33: Évolution de la biomasse des microalgues et des cyanobactéries dans les quatre canaux expérimentaux (] écart-type)

4.3.2.3 Biomasse périphytique totale (ADP et ATP)

Estimée à partir de la concentration en nucléotides adényliques (ATP et ADP), la biomasse totale enregistrée lors de l'étude de 1990 fluctue entre 66 mg C/m² et 282 mg C/m² (figure 4.34). De plus, il n'existe pas de variabilité significative entre les différents canaux; la biomasse, en valeur moyenne pour l'ensemble des prélèvements, est de 152 ± 75 , 151 ± 55 , 167 ± 38 et 139 ± 48 mg C/m², respectivement dans le canal témoin, le canal 0,5%, le canal 2,5% et le canal 10% (tableau 4.17).

La biomasse totale périphytique observée lors de l'étude de 1991 fluctue entre 85 et 337 mg C/m². Ces valeurs de concentrations sont tout à fait comparables à celles observées lors de l'étude précédente, malgré la période d'échantillonnage différente. Les valeurs notées dans le canal le plus chargé en effluent (M = $156 \pm 121 \text{ mg C/m^2}$) ne diffèrent statistiquement pas de celles observées dans les autres canaux (M_{témoin} = 175 ± 85 , M_{0,5%} = 217 ± 68 , M_{2,5%} = $201 \pm 84 \text{ mg C/m^2}$). Par ailleurs, outre une valeur extrême de $2000 \pm 110 \text{ mg C/m^2}$ notée dans le canal 2,5% le 18-06, la biomasse totale dans chaque canal subit une décroissance constante, depuis le début jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Les valeurs de biomasse totale observées sur les substrats artificiels prélevés dans le canal 10% en 1990 sont sensiblement comparables à celles mesurées à la station en aval. Par contre, la biomasse totale mesurée dans le canal témoin est toujours inférieure à celle de la station en amont, bien que l'évolution temporelle soit comparable.

Finalement, alors que les rapports de la biomasse microalgale sur la biomasse totale (figure 4.35) dans le canal témoin sont équivalents à ceux calculés pour la station en amont, l'importance relative des microalgues est plus faible dans le canal 10% par rapport à la station en aval (tableau 4.17).



Figure 4.34: Évolution de la biomasse périphytique totale calculée à partir des concentrations en nucléotides adényliques (ATP et ADP) (] écart-type)



Figure 4.35: Évolution du rapport biomasse autotrophe/biomasse périphytique totale dans les quatre canaux expérimentaux

4.3.3 Évolution du fonctionnement des communautés périphytiques

Assimilation photoautotrophe

À l'exception du premier prélèvement lors de l'étude de 1990, les valeurs de production primaire sont toujours plus élevées dans le canal 10% (tableau 4.18) que dans le canal témoin (figure 4.36). Les valeurs moyennes obtenues pour l'ensemble des prélèvements sont respectivement: $M_{témoin} = 0,019 \pm 0,007$, $M_{0,5\%} = 0,018 \pm 0,007$, $M_{2,5\%} = 0,029 \pm 0,003$ et $M_{10\%} = 0,037 \pm 0,016$ mg C/h/m² pour le canal témoin, le canal 0,5%, le canal 2,5% et le canal 10%. Exprimée en fonction de la concentration en chlorophylle-*a*, l'efficience photosynthétique (figure 4.37) est significativement plus élevée dans les canaux les plus chargés en effluent (canal 2,5% et canal 10%) par rapport au canal témoin et au canal 0,5% (tableau 4.18).

De façon encore plus nette qu'en 1990, les valeurs d'assimilation photoautotrotrophe (et d'efficience photosynthétique) enregistrées en 1991 dans le canal 10% (M = $0,055 \pm 0,042$ mg C/h/m²) sont nettement supérieures (tableau 4.18) à celles notées dans le canal témoin (M = $0,017 \pm 0,012$). Par ailleurs, les valeurs s'élèvent régulièrement entre le premier et le dernier prélèvement.

De façon générale, les valeurs d'assimilation photoautotrophe enregistrées dans les canaux en 1990 sont inférieures à celles observées dans le milieu naturel. Ainsi, elles sont environ 3 à 4 fois inférieures dans le canal témoin $(0,019 \pm 0,007 \text{ mg C/h/m}^2)$ et le canal 10% $(0,045 \pm 0,028 \text{ mg C/h/m}^2)$ qu'à la station témoin $(0,071 \pm 0,046 \text{ mg C/h/m}^2)$ et la station en aval $(0,168 \pm 0,090 \text{ mg C/h/m}^2)$. Tableau 4.18: Niveau de signification du test «t» pour données appariées pour les variables de fonctionnement des communautés périphytiques associées à l'assimilation du carbone inorganique dissous (canaux expérimentaux en 1990 et 1991; valeurs significatives en caractère gras pour $p \le 0.05$).

	Const	Assimilation A. photoautotrophe I photoautotrophe / biomasse microalgale Lipides	acorporation du carbone inorganique ²					
	Callai	photoautotrophe	/ biomasse microalgale	Lipides	C.f.p.m. ¹	Polysaccharides	rganique ² charides Protéines 525 0,3136 509 0,7163 368 0,4388 082 0,3134 897 0,5987 912 0,2237 746 0,0513 353 0,6305 408 0,4441 293 0,0339 576 0,0007 815 0,0031 838 0,3286 535 0,0826	
1990	0% - 0,5%	0,8931	0,7959	0,0541	0,1010	0,4525	0,3136	
	0,5% - 2,5%	0,0882	0,0125	0,1047	0,2224	0,7509	0,7163	
	2,5% - 10%	0,2505	0,2846	0,0575	0,0534	0,4368	0,4388	
	0% - 10%	0,0375	0,0367	0,0403	0,1314	0,1082	0,3134	
1991	0% - 0,5%	0,8014	0,8240	0,7184	0,9484	0,8897	0,5987	
	0,5% - 2,5%	0,6941	0,6814	0,2409	0,8494	0,4912	0,2237	
	2,5% - 10%	0,1085	0,1084	0,2031	0,41574	0,9746	0,0513	
	0% - 10%	0,0083	0,0084	0,8449	0,2675	0,7353	0,6305	
1990 - 1991	Canal 0% Canal 0,5% Canal 2,5% Canal 10%	0,7038 0,7259 0,2495 0,1832	0,6946 0,8894 0,1605 0,1763	0,2002 0,0163 0,0193 0,0072	0,8300 0,1064 0,6501 0,1813	0,4408 0,8293 0,0576 0,9815	0,4441 0,0339 0,0007 0,0031	
1990	Station A - canal 0% Station B - canal 10%	0,0364 0,0171	0,0731 0,1327	0,3059 0,4026	0,0823 0,1509	0,8838 0,0635	0,3286 0,0826	

¹Composés de faible poids moléculaire

² À noter: les tests statistiques ont été réalisés sur les données absolues et non pas sur les données relatives (pourcentage)



Figure 4.36: Évolution de l'assimilation photoautotrophe dans les quatre canaux expérimentaux (] écart-type)



Figure 4.37: Évolution de l'efficience photosynthétique (assimilation photoautotrophe /biomasse autotrophe) pour les études réalisées dans les canaux expérimentaux

Incorporation du carbone inorganique dans les macromolécules

Tous canaux confondus, en valeur moyenne sur l'ensemble de l'étude de 1990, l'incorporation du carbone inorganique se fait, à l'image des observations sur le terrain (tableau 4.18), préférentiellement dans les lipides (M = 36%; valeurs extrêmes: 4% et 65% de l'incorporation totale), puis dans les protéines (M = 27%; valeurs extrêmes: 16% et 45%), dans les composés de faible poids moléculaire (M = 22%; valeurs extrêmes: 10% et 40%) et, enfin, dans les polysaccharides (M = 15%; valeurs extrêmes: 5% et 39%) (figure 4.38). Globalement, on ne constate aucun effet d'effluent sur l'incorporation du carbone inorganique dans les différentes fractions moléculaires par rapport au canal témoin (tableau 4.19 et 4.20). Par ailleurs, l'évolution temporelle de l'allocation du carbone inorganique dans les différentes fractions moléculaires montre, pour les quatre canaux, une diminution de l'incorporation dans les lipides (figure 4.38). L'évolution temporelle de l'incorporation dans les lipides dans le canal témoin est cependant très différente de celle observée dans le canal le plus chargé en effluent.

Pour l'étude de 1991 (figure 4.39), l'incorporation du carbone inorganique se fait préférentiellement dans les protéines (M = 50%; valeurs extrêmes: 33% et 64%), puis dans les composés de faible poids moléculaire (M = 28%; valeurs extrêmes: 17% et 40%), dans les lipides (M = 11%; valeurs extrêmes: 3 % et 36%) et, enfin, dans les polysaccharides (M=10%; valeurs extrêmes: 6% et 19%). Par rapport aux valeurs obtenues 1990, le pourcentage d'incorporation dans les lipides est significativement plus faible dans tous les canaux au détriment de l'incorporation du substrat organique marqué dans les protéines. Globalement, on ne constate que peu de différences dans l'incorporation dans les différentes macromolécules entre les quatre canaux (tableau 4.20).



Figure 4.38: Pourcentages d'incorporation du carbone inorganique dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) (étude de 1990)

		Lipides (%)		Composés de faible poids moléculaire (%)			Polysaccharides (%)			Protéines (%)			
		М	MIN	MAX	М	MIN	MAX	М	MIN	MAX	М	MIN	MAX
1990	Canal 0%	23	4	42	26	19	40	18	7	39	34	25	45
	Canal 0,5%	42	25	65	19	12	26	14	6	27	26	18	31
	Canal 2,5%	34	22	56	24	11	38	15	8	36	27	19	38
	Canal 10%	44	21	62	18	10	31	14	5	29	23	16	32
1991	Canal 0%	12	3	36	27	17	39	11	6	19	50	40	59
	Canal 0,5%	15	5	26	27	22	30	11	7	18	46	33	57
	Canal 2,5%	8	4	18	28	17	40	9	7	12	55	46	64
	Canal 10%	11	5	18	32	27	40	9	6	13	49	44	56

Tableau 4.19: Pourcentages d'incorporation moyens (M), minimaux (MIN) et maximaux (MAX) du carbone inorganique dans les macromolécules et les composés de faibles poids moléculaire (CFPM) dans les quatre canaux expérimentaux.

Tableau 4.20: Niveau de signification du test «t» pour données appariées pour les variables de fonctionnement des communautés périphytiques associées à l'assimilation du substrat organique marqué (canaux expérimentaux en 1990 et 1991; valeurs significatives en caractère gras pour $p \le 0.05$).

	Assimilation			ation du subs assimilation	trat organiqu photohétérot	A. photohétérotrophe	A.		
		photoneterotrophe	Lip. ¹	C.f.p.m. ²	o.m. ² Polys. ³ Prot. ⁴		/ biomasse totale	chemoneterotrophe	
1990	0% - 0,5%	0,7488	0,9019	0,4483	0,0707	0,1203	0,3276	0,0147	
	0,5% - 2,5%	0,3435	0,8657	0,4565	0,4048	0,5042	0,0827	0,0544	
	2,5% - 10%	0,0827	0,5104	0,6879	0,5964	0,3866	0,1081	0,1705	
	0% - 10%	0,0119	0,0729	0,5716	0,5337	0,1576	0,0006	0,3840	
1991	0% - 0,5%	0,3455	0,4632	0,3545	0,1110	0,0632	0,8365	0,0505	
	0,5% - 2,5%	0,4221	0,1969	0,5030	0,0511	0,0656	0,2676	0,0577	
	2,5% - 10%	0,4690	0,6012	0,6791	0,1981	0,2130	0,7798	0,2718	
	0% - 10%	0,4223	0,5464	0,2864	0,0852	0,0784	0,6221	0,3844	
1990-1991	Canal 0% Canal 0,5% Canal 2,5% Canal 10%	0,1641 0,6091 0,5966 0,5450	0,6682 0,6227 0,9404 0,1488	0,7065 0,3271 0,3248 0,1816	0,1593 0,1267 0,0602 0,0508	0,3963 0,5648 0,0803 0,9051	0,6275 0,3395 0,4787 0,3850	0,9458 0,2759 0,0705 0,2486	
1990	Station A - canal 0% Station B - canal 10%	0,1289 0,2131	0,4603 0,1144	0,1423 0,8916	0,3412 0,4387	0,8481 0,2261	0,3800 0,3132	0,0549 0,1459	

¹ Lipides; ² Composés de faible poids moléculaire; ³ Polysaccharides; ⁴ Protéines

⁵ À noter: les tests statistiques ont été réalisés sur les données absolues et non pas sur les données relatives (pourcentage)





Assimilation photohétérotrophe globale du glucose

Les valeurs d'assimilation photohétérotrophe du glucose, lors de l'étude de 1990, varient entre 0,004 et 0,030 mg C/h/m² (figure 4.40). Les valeurs sont plus élevées dans le canal le plus chargé en effluent ($M_{10\%} = 0,022 \pm 0,008$ mg C/h/m²) que dans les autres canaux ($M_{témoin} = 0,009 \pm 0,003$, $M_{0.5\%} = 0,009 \pm 0,04$, $M_{2,5\%} = 0,014 \pm 0,003$ mg C/h/m²) (différences significatives entre le canal témoin et le canal 10% à p<0,01; tableau 4.20). Dans le canal 10%, l'assimilation photohétérotrophe augmente régulièrement entre le premier et le quatrième prélèvement puis se stabilise par la suite. Enfin, exprimée en fonction de la biomasse totale (figure 4.41), l'efficience photohétérotrophe demeure significativement plus élevée dans le canal 10%.

Lors de l'étude de 1991 (figure 4.40), les valeurs d'assimilation photohétérotrophe du glucose ne sont pas significativement plus élevées qu'en 1990 malgré qu'elles varient de 0,003 à 0,073 mg C/h/m². Par ailleurs, ces valeurs d'assimilation photohétérotrophe exprimées ou non en fonction de la biomasse totale ne sont pas significativement différentes d'un canal à l'autre malgré la valeur extrême notée dans le canal 10% le 18 juin (tableau 4.20). De la même façon qu'en 1990, elles augmentent régulièrement du premier au dernier prélèvement, quel que soit le canal considéré.

Quelle que soit l'étude considérée, l'assimilation chémohétérotrophe (figure 4.42) se caractérise par une variabilité temporelle et spatiale (tableau 4.20) relativement faible, à l'exception du canal le moins chargé en effluent dont les valeurs d'assimilation chémohétéro-trophe sont significativement inférieures à celles du canal témoin.



Figure 4.40: Évolution de l'assimilation photohétérotrophe (substrat=glucose) dans les quatre canaux expérimentaux (] écart-type)



Figure 4.41: Évolution de l'assimilation photohétérotrophe/biomasse totale (ADP+ATP) dans les quatre canaux expérimentaux (substrat=glucose)



Figure 4.42: Évolution de l'assimilation chémohétérotrophe (substrat=glucose) dans les quatre canaux expérimentaux (] écart-type)

Pour l'ensemble des résultats, l'assimilation photohétérotrophe représente en moyenne 54% (24 à 69%) et 69% (40 à 84%), respectivement pour le canal témoin et le canal 10%, de l'assimilation hétérotrophe totale.

Finalement, les valeurs d'assimilation photohétérotrophe enregistrées en laboratoire en 1990, sont similaires à celles observées en milieu naturel avec des valeurs moyennes pour le canal témoin et le canal 10% de 0,009 \pm 0,003 mg C/h/m² et de 0,022 \pm 0,008 mg C/h/m comparativement à 0,015 \pm 0,009 mg C/h/m² et 0,027 \pm 0,007 mg C/h/m², respectivement à la station en amont et la station en aval.

Incorporation de la radioactivité associée au substrat organique

À l'instar des résultats obtenus en milieu naturel en 1990, l'incorporation de la radioactivité liée au glucose se fait préférentiellement, et de façon très nette, dans les protéines (M = 48%; valeurs extrêmes: 34% et 64% de l'incorporation totale pour l'ensemble de l'étude et tous les canaux confondus). Les incorporations dans les polysaccharides (M = 23%; valeurs extrêmes: 16% et 32%), dans les composés de faible poids moléculaire (M = 21%; valeurs extrêmes: 14% et 33%) et dans les lipides (M = 8%; valeurs extrêmes; 1% et 30%) sont, de fait, beaucoup plus faibles (figure 4.43). Globalement, on constate que la présence de l'étfluent dans le canal 10% n'affecte que très peu l'allocation de la radioactivité dans les différentes fractions par rapport aux autres canaux.

À l'image des résultats obtenus l'année précédente (tableau 4.19), l'incorporation de la radioactivité liée au glucose (figure 4.44), se fait préférentiellement dans les protéines (M = 43%; valeurs extrêmes: 29% et 55%) lors de l'étude de 1991. Cependant, l'incorporation dans les polysaccharides (M = 30%; valeurs extrêmes: 25% et 38%) reste relativement élevée par rapport à l'allocation de la radioactivité dans les composés de faible poids moléculaire









(M = 17%; valeurs extrêmes: 2% et 25%) et dans les lipides (M = 9%; valeurs extrêmes: 1% et 17%). L'incorporation dans les diverses fractions moléculaires varie peu d'un canal à l'autre et pour l'ensemble de l'étude (tableau 4.21).

Tableau 4.21: Pourcentages d'incorporation moyens (M), minimaux (MIN) et maximaux (MAX) de la radioactivité liée au carbone organique dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (CFPM) dans les quatre canaux expérimentaux.

		Lipides (%)		Composés de faible poids moléculaire (%)			Polysaccharides (%)			Protéines (%)			
		М	MIN	MAX	М	MIN	MAX	М	MIN	MAX	М	MIN	MAX
1990	Canal 0%	9	5	16	23	17	33	24	18	30	44	39	52
	Canal 0,5%	8	2	30	20	14	27	21	16	27	51	34	64
	Canal 2,5%	8	1	14	22	17	25	24	18	32	47	39	55
	Canal 10%	6	1	17	21	16	29	23	19	25	50	44	59
1991	Canal 0%	9	0	15	20	16	25	33	31	35	37	29	51
	Canal 0,5%	7	4	10	16	13	22	26	25	28	51	44	55
	Canal 2,5%	10	6	13	18	16	20	33	29	38	39	34	44
	Canal 10%	10	4	17	15	2	22	28	25	30	46	39	52

CHAPITRE V DISCUSSION

5.1 Aspects méthodologiques

5.1.1 Représentativité des échantillons et des mesures effectuées

La principale difficulté pour connaître la signification écologique des effets du rejet d'un effluent dans le milieu est de différencier la variabilité naturelle des variables mesurées de celle induite par l'effluent. Dans toute étude visant à estimer les effets d'une contamination sur une communauté naturelle, le choix des variables à mesurer s'avère donc une étape critique. Les variables usuellement utilisées en écologie présentent, le plus souvent, une variabilité importante qui est d'autant significative que le stress est élevé (Odum *et al.*, 1979). Dans ce sens, selon Wetzel (1983) et Aloi (1990), l'absence de standardisation des protocoles limite grandement les comparaisons entre les études menées sur des systèmes différents et handicape sérieusement les études sur le fonctionnement et la structure des communautés. Dans ce contexte et face aux impératifs techniques liés au travail sur le terrain et à la recherche d'une optimisation des mesures afin de diminuer la variabilité, nous avons choisi de ne retenir que les variables de structure et de fonctionnement les plus couramment utilisés et pour lesquelles une méthode standardisée existe (Aloi, 1990).

Dans les études dont l'objectif est d'estimer la réponse d'une communauté à un stress, le défi est de connaître la variabilité inhérente des variables sélectionnées (Pratt et Bowers, 1992). L'étude exploratoire de 1989 a permis d'estimer cette variabilité à des valeurs variant autour de 30%. Bien que la répétabilité des études au niveau des communautés soit encore à
démontrer (Giesey et Allred, 1985; Pratt et Bowers, 1992), la variabilité des réponses observées d'une année à l'autre s'est avérée suffisamment faible pour obtenir une capacité de discrimination permettant de détecter les réponses attendues.

En plus du choix des variables, la conception du protocole expérimental est aussi un élément pouvant mener à la formulation de conclusions erronées. Ainsi, nous avons choisi, pour ce projet, d'une part de comparer les variables mesurées dans le milieu perturbé avec un site de référence en amont du rejet et, d'autre part, de mener, en parallèle, une étude de l'effet de l'effluent dans un système de canaux expérimentaux en laboratoire. Par ailleurs, selon Schindler (1987) l'hétérogénéité des substrats représente généralement la source majeure de variations rendant l'interprétation des effets sur la communauté périphytique très difficile. Conformément aux recommandations de Wetzel (1983), nous avons privilégié l'utilisation d'un substrat artificiel afin de minimiser cette source de variabilité. Pour cela, des lames de verre ont été fixées en position horizontale sur un échantillonneur maintenu, à l'aide de flotteurs, à une profondeur de 5 cm. Nous avons choisi de maintenir les lames en position horizontale plutôt qu'en position verticale afin, d'une part, de favoriser une grande accumulation de la biomasse et un plus grand dépôt de matière organique malgré l'apport potentiellement important de détritus (Bamforth, 1982; Aloi, 1990) et, d'autre part, de favoriser le développement d'une communauté similaire à celle se développant sur le fond rocheux de la rivière. Dans ce sens, il ressort de nos résultats, suite à l'examen d'échantillons provenant du substrat naturel de la rivière, une bonne concordance entre les espèces colonisant les deux types de substrats.

Par ailleurs, selon Aloi (1990), l'utilisation d'un récipient fermé ne permettant pas de mouvements d'eau peut entrainer une sous-estimation de la productivité mesurée en rivière. En conséquence, nous avons placé nos récipients de verre sur l'échantillonneur de manière

à ce que les mouvements de ce dernier, induits par le courant, se propagent à l'eau dans l'incubateur. Ce système ne permet pas toutefois de simuler l'écoulement de l'eau sur les lames et entraine tout de même une sous-estimation de la productivité primaire (Rodgers *et al.*, 1978).

Le choix du mélange d'acides aminés au début de l'étude (saison 1989) pour mesurer l'assimilation photohétérotrophe est justifié par plusieurs raisons. Ainsi, un mélange traduit mieux la diversité des composés rencontrés en milieu naturel et certains travaux ont démontré une sélectivité marquée dans l'assimilation des composés organiques et en particulier des acides aminés (Feuillade et Krupka, 1986). De plus, des processus d'hétérotrophie microalgale étant suspectés dans nos conditions d'expérience, nous avons pris en considération les recommandations de Flynn et Butler (1985) qui précisent que les communautés de microalgues présentent rarement un taux d'assimilation élevé pour un seul acide aminé, mais plutôt des taux d'assimilation plus faibles pour de nombreux acides aminés. Ainsi, ce choix nous permettait de maximiser la probabilité d'obtenir des valeurs d'assimilation significatives et d'optimiser notre protocole expérimental en milieu naturel. Enfin, lors de travaux antérieurs sur des communautés de la rivière Malbaie se développant dans des canaux expérimentaux, Amblard *et al.* (1990) ont utilisé ce même mélange d'acides aminés.

L'utilisation du D-glucose comme substrat organique lors des études subséquentes est justifiée par la nature même de ce composé. En effet, le bois utilisé par les fabriques de pâtes et papiers canadiennes renferme entre 60% et 80%, en poids sec, de polysaccharides (McCubbin, 1984). Or, ces polysaccharides sont composés principalement de cellulose, un polymère du glucose. Par ailleurs, même si les études récentes tendent vers l'utilisation d'un mélange d'acides aminés, le glucose a été fréquemment utilisé dans les études de l'hétérotrophie microalgale et bactérienne (Droop, 1974; Nielson et Lewin, 1974; Seki *et al.*, 1980; Vincent et Goldman, 1980; Bollman et Robinson, 1985).

Enfin, les concentrations en glucose et en acides aminés dans l'eau de la rivière n'ont pas été mesurées. Par conséquent, l'effet de dilution du substrat radiomarqué n'a pas été pris en compte. De plus, les résultats présentés dans cette étude correspondent à des valeurs d'assimilation photohétérotrophe potentielle d'un seul substrat (ou mélange d'une même famille de composés). Or, la vitesse de prise en charge de ce substrat par les microorganismes est, en théorie, dépendante de la concentration de ce même substrat dans le milieu (figure 5.1). Ainsi, dans la situation où la concentration du substrat organique (marqué et non-marqué) est faible par rapport à sa constante d'affinité (cas i), les vitesses d'assimilation photohétérotrophe mesurées reflètent les valeurs réelles d'assimilation du substrat organique et la comparaison amont-aval peut se faire sans ambiguïté. Cependant, lorsque la concentration du substrat organique est élevée par rapport à cette même constante d'affinité (cas ii), les mesures d'assimilation photohétérotrophe du substrat marqué ne refléteront les vitesses d'assimilation réelles que si les concentrations du substrat organique varient très peu d'une station à l'autre. Sinon, c'est-à-dire dans la situation de nos études où les concentrations en substrat organique dans le milieu risquent d'être plus élevées à la station en aval qu'à la station en amont, les vitesses d'assimilation mesurées reflètent à la fois les changements de biomasse active et de la dilution du substrat organique marqué.

Par conséquent, si l'on admet que les concentrations en glucose dans les eaux de la rivière Malbaie au niveau de la station en amont se situent près des concentrations retrouvées en milieu naturel, c'est-à-dire entre 4 nM et 1 μ M (Seki *et al.*, 1980; Riemann *et al.*, 1982) et que les concentrations ajoutées du substrat organique marqué sont à peu près équivalentes



Figure 5.1: Représentation graphique théorique de la vitesse de prise en charge d'un substrat organique en fonction de sa concentration dans le milieu. $V_{\text{max}} =$ vitesse maximale de prise en charge; $K_{\text{s}} =$ concentration de substrat (ex.: glucose) donnant une valeur de $\mathcal{O} = V_{\text{max}}/2$.

aux concentrations du substrat naturel, alors, à biomasse et à activité spécifique égales, les vitesses d'assimilation photohétérotrophe mesurées à la station en aval seront inférieures aux valeurs réelles d'assimilation du substrat organique. Dans un tel cas, les différences d'assimilation photohétérotrophe observées entre les stations représenteraient une sous-estimation des différences réelles dans le milieu.

5.1.2 Interférence bactérienne

La part respective des activités microalgale et bactérienne dans l'assimilation hétérotrophe n'a pu être établie quantitativement au sein de l'ensemble de la communauté périphytique.

La séparation, en milieu naturel, de l'activité hétérotrophe microalgale de l'activité hétérotrophe bactérienne demeure encore très difficile, bien que de nombreux auteurs aient expérimenté diverses approches au moyen du fractionnement par filtration différentielle (Sheldon et Sutcliffe, 1969; Sheldon, 1972; Hoppe, 1976) ou de l'utilisation de substances inhibitrices sélectives (Furhman et McManus, 1984; Rachiq *et al.*, 1991). Les études microautoradiographiques paraissent être une des seules méthodes susceptibles d'identifier précisément les microorganismes responsables de l'assimilation d'un composé organique. Rivkin et Putt (1987) ayant proposé d'appliquer les techniques microautoradiographiques à des cellules isolées par micromanipulation, nous avons mis en oeuvre un protocole d'étude microautoradiographique sur des espèces microalgales isolées du milieu naturel afin de connaître les potentiels photohétérotrophes de ces microalgues. En toute rigueur, seule une étude microautoradiographique sans ambiguïté l'assimilation du glucose marqué réalisée par des diatomées de celle réalisée par des bactéries fixées. Cependant, dans le cas de cette étude, l'absence de traces sur les cellules de la station en amont (très probablement colonisées, elles

aussi, par des bactéries épiphytes) et l'observation simultanée de cellules de diatomées pratiquement toutes marquées à la station en aval, laissent supposer que cette assimilation est, en grande partie, liée aux diatomées qui se développent spécifiquement à l'aval de l'effluent. Cette interprétation est étayée par les dénombrements des cellules marquées et non marquées des espèces isolées et provenant des stations en amont et en aval. En effet, 92% (*Cymbella ventricosa*) et 96% (*Coconeis placentula*) des espèces dominantes de la station en aval sont marquées, alors que seulement 0% (*Achnanthes minutissima*) à 11% (*Tabellaria flocculosa*) des espèces dominantes de la station en amont le sont (tableau 4.7).

5.2 Effets de l'effluent sur la structure des communautés périphytiques

En milieu naturel

Les conditions prévalant à la station située en aval du point de rejet de l'effluent de pâtes et papiers (station B) se traduisent, d'une part, par une hausse de l'abondance des bactéries fixées (hausses significatives deux annnées d'études sur quatre) et d'autre part, par une baisse systématique de la diversité spécifique, par rapport à la station en amont, de la communauté microalgale, même si cette baisse n'est statistiquement significative qu'en 1990. Cette diminution est également associée à d'importantes modifications de l'abondance relative des différentes classes de microalgues. Ainsi, l'abondance relative des diatomées, à cette station, est plus faible que celle observée à la station en amont. Cette baisse est compensée par une contribution relative plus élevée des cyanobactéries (études 1989 et 1990) et des chlorophycées (étude 1991). Cette dernière classe de microalgues est, par ailleurs, essentiellement représentée par *Actinastrum hantzchii*, espèce planctonique communément observée dans les eaux chargées en matière organique dissoute (Palmer, 1977).

Par ailleurs, il est tout à fait remarquable d'observer que ces variations dans la contribution relative des différentes classes de microalgues se retrouvent, d'une part, d'une année à l'autre et, d'autre part, comme nous le verrons plus loin, au niveau des canaux expérimentaux.

De plus, à l'intérieur de la classe de diatomées, l'effluent entraine des changements d'espèces dominantes. Ainsi, les communautés microalgales périphytiques se développant à la station en amont sont composées principalement d'espèces caractéristiques des eaux naturelles du Bouclier canadien (Hamilton et Duthie, 1984; Hudon et Duthie, 1984; Hudon *et al.*, 1987) dont *Achnanthes minutissima* et *Tabellaria flocculosa*, alors que celles se développant à l'aval de l'effluent sont dominées par *Cymbella ventricosa* et *Cocconeis placentula*. Ces deux dernières espèces sont caractéristiques, d'une part, de milieux recevant des effluents de pâtes et papiers et, d'autre part, de milieux enrichis en matière organique et/ou par des substances phénoliques (Palmer, 1977).

Sur un plan quantitatif, les valeurs de la biomasse microalgale et des cyanobactéries observées à la station en amont dans la rivière Malbaie sont, à l'image des rivières québécoises ne drainant pas de terres agricoles (MEF, 1992), relativement faibles. Nous avons pu constater que cette biomasse est généralement plus élevée à la station recevant l'effluent qu'à la station en amont, malgré qu'aucune différence statistiquement significative n'a pu être mise en évidence. Bien que la présence de l'effluent se traduise également par une densité bactérienne plus forte à la station en aval, le rapport biomasse autotrophe/biomasse totale est significativement plus élevé à la station en aval qu'à la station en amont (figure 4.9 et tableau 4.8), principalement lors des études de 1990 et 1991. Les caractéristiques physicochimiques sévissant à la station en aval se traduisent donc par la prolifération d'espèces résistantes caractéristiques d'un tel milieu ce qui permet le maintien d'une biomasse microalgale aussi élevée qu'à la station témoin (figure 4.7).

Par ailleurs, nous avons pu constater que, dès les premières semaines de colonisation, l'augmentation de la biomasse bactérienne sur les substrats artificiels est beaucoup plus rapide que celle des microalgues. Très bien documentée dans la littérature (Baier, 1972; Weitzel, 1979; Hudon et Bourget, 1981; Pontasch et Brusven, 1987, Amblard *et al.*, 1990), cette succession des communautés périphytiques correspond à une phase de colonisation initiale rapide des substrats artificiels par la biomasse bactérienne, suivie d'une phase de saturation qui est caractérisée par le développement plus lent de la biomasse microalgale (Sand-Jensen, 1983). Pendant la phase initiale, la pression prédatrice des brouteurs serait négligeable (APHA *et al.*, 1985; Feminella *et al.*, 1989) et pourrait même stimuler le développement des producteurs primaires en assurant une intensité lumineuse optimale dans les couches inférieures du périphyton suite à l'enlèvement de cellules microalgales scénescentes (Lamberti *et al.*, 1987). Nos observations microscopiques ont mis en évidence la présence d'organismes brouteurs dans nos échantillons prélevés aux diverses stations. Cependant, ce groupe d'organismes est toujours très faiblement représenté en nombre avec une présence sporadique sur les lames observées.

Les expériences de transposition des échantillonneurs, lors de la campagne de 1990, ont, par ailleurs, démontré la capacité des communautés microalgales périphytiques de réagir très rapidement aux changements des conditions du milieu. En effet, la transposition d'un échantillonneur de la station en amont vers la station en aval amène une modification profonde de la structure de la communauté. Ainsi, la diminution de la diversité spécifique observée dès la première série de mesures après le début de l'incubation à la nouvelle station s'accompagne de la disparition des diatomées dominant la communauté avant le transfert, soit *Achnanthes minutissima* et *Tabellaria flocculosa*, et du remplacement par une communauté dominée, essentiellement, par *Cocconeis placentula* et *Cymbella ventricosa*. De la même façon, le transfert inverse d'un échantillonneur de la station en aval vers la

station en amont amène aussi, cependant moins rapidement, une modification importante de la structure de la communauté qui est passé par une structure transitoire dominée par les cyanobactéries et les chlorophycées, des classes généralement favorisées par l'augmentation de l'irradiation lumineuse (Lyford et Gregory, 1975; Shortreed et Dtockner, 1983; Steinman et McIntire, 1987). Cependant, ces changements de structure affectent peu la biomasse microalgale et la biomasse totale, qui atteignent rapidement des valeurs à peu près équivalentes à celles des stations hôtesses.

En conditions contrôlées

En raison de la composition des rejets de pâtes et papiers et de la variabilité des facteurs environnementaux du milieu naturel, l'étude de l'impact de ce type d'effluent sur les communautés périphytiques se développant en canaux expérimentaux s'est avéré un choix judicieux. En effet, les essais en laboratoire effectués en conditions contrôlées ont permis d'isoler l'influence de cet effluent en limitant les variations des conditions environnementales (tableau 5.1). Ainsi, à l'instar des résultats obtenus en rivière, la présence de cet effluent dans 3 des 4 canaux expérimentaux se traduit par des conditions pouvant, à la fois, avoir des effets potentiellement inhibiteurs (hausse de la turbidité, présence potentielle d'une concentration élevée en substances phénoliques et d'une toxicité décelable) et des effets potentiellement stimulants (apports en carbone organique et inorganique dissous) pour la communauté microalgale périphytique. En revanche, contrairement aux observations effectuées dans la rivière Malbaie, les concentrations en éléments nutritifs, notamment celles en azote, ne sont pas significativement différentes entre le canal témoin et les trois canaux chargés en effluent (tableau 4.15). L'apport limité en éléments nutritifs dans les canaux expérimentaux chargés en effluent par rapport au canal témoin, alors que la station en aval est caractérisée par de fortes concentrations en éléments nutritifs, peut s'expliquer, du moins

Variable	Unité	Étude e	n rivière	Étude en canaux expérimentaux			
		Station en amont moyenne (écart-type)	Station en aval moyenne (écart-type)	Canal 0% moyenne (écart-type)	Canal 10% moyenne (écart-type)		
Conductivité	μSiemens	26,6 (4,3)	46,4 (7,1)	23 (-)	26 (-)		
Intensité lumineuse (surface)	$\mu \mathrm{E/s/m}$	542 (564)	468 (291)	50 (-)	50 (-)		
Oxygène dissous	mg/L	8,1 (1,8)	8,4 (2,4)	9,8 (0,1)	9,3 (-)		
pH		6,9 (0,4)	7,2 (1,0)	6,5 (0,1)	6,6 (0,1)		
Température	°C	18,3 (1,4)	16,2 (3,7)	21,8 (0,6)	21,8 (0,6)		
Turbidité	U.T.N.	0,6 (0,2)	1,2 (0,7)	0,4 (0,1)	2,5 (0,3)		
Azote total	mg/L	0,14 (0,02)	0,35 (0,10)	0,16 (0,05)	0,11 (0,03)		
Azote ammoniacal	mg/L	0,02 (0,01)	0,03 (0,01)	0,02 (-)	0,02 (-)		
Nitrite-nitrate	mg/L	0,03 (0,01)	0,20 (0,03)	0,03 (0,02)	0,02 (-)		
Phosphore total	mg/L	0,01 (0,01)	0,01 (0,01)	0,01 (-)	0,01 (-)		
Ortho-phosphate	mg/L	0,01 (0,01)	0,01 (0,01)	0,01 (-)	0,01 (-)		
C inorganique dissous	mg/L	2,7 (0,5)	5,4 (0,5)	4,0 (2,7)	4,2 (5,0)		
C organique dissous	mg/L	2,7 (0,7)	14,4 (1,6)	2,6 (0,3)	14,8 (0,7)		
Silice	mg/L	6,2 (0,3)	12,5 (0,6)	5,2 (0,4)	6,1 (0,2)		
Bactéries x 10 ³	U.F.C./mL	1,19 (0,91)	19,2 (20,7)	1,70 (1,75)	23,92 (9,85)		

Tableau 5.1: Résumé des résultats obtenus pour les mesures des variables physico-chimiques et biologiques effectuées dansles eaux de surface de la rivière Malbaie et dans les eaux surnageantes des canaux expérimentaux en 1990.

italique : différence significative entre les stations ou entre les canaux expérimentaux

gras : Différence significative entre la station en amont et le canal 0% ou entre la station en aval et le canal 10%

en partie, par un apport autre que l'effluent dont, à cette dernière station, des eaux du ruisseau présent à ce niveau (figure 3.1). En effet, les concentrations en silice et en azote (nitrites-nitrates) des eaux de ce ruisseau représentent un apport supplémentaire d'environ 6% par rapport à 2 % et 1% pour l'effluent (tableau 5.2). Cependant, ce calcul des charges est sommaire et ne présente qu'une approximation de l'importance relative du ruisseau et de l'effluent.

Les conditions expérimentales se traduisent par une diversité spécifique généralement plus faible dans les canaux chargés en effluent par rapport au canal témoin. Cette diminution n'est, cependant, pas proportionnelle à l'apport croissant en effluent. Au niveau de la contribution relative des différentes classes d'algues, la présence de l'effluent a également conduit à une diminution de l'importance relative des diatomées dans le canal 10%. Cette baisse de l'importance relative des diatomées dans le canal 10%. Cette baisse de l'importance relative des diatomées dans le canal 10% est compensée par une plus forte contribution relative des chlorophycées, dont *Actinastrum hantszhii* est l'espèce

principale, et des cyanobactéries. De plus, la présence de l'effluent à cette concentration (10%) favorise le développement de *Cocconeis placentula* et de *Cymbella ventricosa*, espèces de diatomées rarement observées dans les trois autres canaux expérimentaux, où les espèces dominantes sont *Achnanthes minutissima* et *Tabellaria flocculosa*.

À l'instar des résultats en rivière, la présence de l'effluent à une concentration de 10% ne se traduit pas par une diminution de la biomasse totale de la communauté périphytique (tableau 5.3). Aussi, cette présence de l'effluent en concentration croissante n'a apparament pas

Tableau 5.2: Charges moyennes calculées en nitritres-nitrates et en silice pour la station en amont, la station en aval, l'effluent
et le ruisseau se déversant à la station en aval en 1990.

Élément nutritif	Station en amont			Effluent		Ruisseau			Station en aval			
	Concentra- tion (g/L)	Débit (L/s)	Charge (g/s)	Concentration (g/L)	Débit (L/s)	Charge (g/s)	Concentration (g/L)	Débit (L/s)	Charge (g/s)	Concentration (g/L)	Débit (L/s)	Charge (g/s)
NO ₂ -NO ₃	0,00003	31 400	0,94	0,0002	590	0,12	0,0002	2 000	0,40	0,0002	31 400	6,28
Silice	0,006	31 400	188	0,0082	590	4,84	0,0123	2 000	24	0,0123	31 400	386,22

Étude en rivière Étude en canaux expérimentaux Unité Variable Canal 10% Station en amont Station en aval Canal 0% moyenne (écart-type) movenne (écart-type) moyenne (écart-type) moyenne (écart-type) U.F.C./m² x 10⁹ Densité bactérienne 0,2 (0,3) 9,3 (8,9) 0,7 (0,8) 0,9 (0,9) (bactéries fixées) Composition spécifique Achnanthes minutissima Cocconeis placentula Achnanthes minutissima Achnanthes minutissima Tabellaria flocculosa Cymbella ventricosa Tabellaria flocculosa Tabellaria flocculosa (espèces dominantes) Achnanthes linearis Actinastrum hantzschii Achnanthes linearis Cocconeis placentula Tabellaria flocculosa Cymbella ventricosa Actinastrum hantzschii bits/cellule 3,2 (1,4) 2,4 (1,6) 2,3(1,3)2,5 (0,9) Diversité spécifique Biomasse microalgale mg chl- a/m^2 61,8 (63,3) 228,2 (264,2) 37,3 (15,5) 22,0 (13,2) mg C/m² 241 (66) 315 (217) 152 (75) 139 (48) **Biomasse** totale mg chl-a/m²/ 0,62 (0,35) 0.32 (0.25) biomassemicroalgale/ 0,31 (0,37) 0,19 (0,13) $mg C/m^2$ biomasse totale Assimilation mg C/h/m² 0,07 (0,05) 0,17 (0,09) 0,02 (0,01) 0,04 (0,02) photoautotrophe mg C/h/m²/ 0,05 (0,03) 0,08 (0,04) 0,02 (0,01) 0,06 (0,03) Efficience mg chl-a/m² photosynthétique Incorporation du carbone pourcentage1 Lipides 34,5 (23,0) Lipides 44,0 (22,2) Lipides 22,6 (15,0) Lipides 44,5 (13,4) C.F.P.M. 15.9 (6.2) C.F.P.M. 30,5 (9,8) C.F.P.M. 26,1 (7,3) C.F.P.M. 18,2 (7,8) inorganique Polysac. 13,8 (8,3) Polysac. 18,1(9,5) Polysac. 9,5 (6,3) Polysac. 17,6 (11,6) Protéines 23.4 (6.3) Protéines 31,5 (18,9) Protéines 16,0 (9,6) Protéines 33,6 (8,2) 0,02 (0,01) mg C/h/m² 0,02 (0,01) 0,03 (0,01) 0,01 (0,01) Assimilation photohétérotrophe mg C/h/m²/ 7,86 x 10-5 (6,14) A. photohétérotrophe/ 6,86 x 10-5 (4,92) 12,05 x 10-5 (7,81) 19.45 x 10⁻⁵ (14,48) mg C/m² biomasse totale Incorporation de la pourcentage1 Lipides 10,7 (6,0) Lipides 12,1 (9,2) Lipides 9,0 (4,3) Lipides 5.9 (5.9) radioactivité liée au C.F.P.M. 18,2 (5,9) C.F.P.M. 20,5 (8,9) C.F.P.M. 22,7 (5,6) C.F.P.M. 21,1 (5,6) carbone organique Polysac. 28,1 (10,9) Polysac. 25,3 (7,0) Polysac. 23,7 (4,8) Polysac. 22,6 (2,0) Protéines 43,1(18,3) Protéines 42,1(12,8) Protéines 44,5(5,5) Protéines 50,4 (5,7)

Tableau 5.3: Résumé des résultats obtenus pour les mesures des variables biotiques effectuées dans la rivière Malbaie et dans les canaux expérimentaux en 1990.

italique : différence significative entre les stations ou entre les canaux expérimentaux **gras :** Différence significative entre la station en amont et le canal 0% ou entre la station en aval et le canal 10%

5.3 Effets de l'effluent sur le fonctionnement des communautés périphytiques

En milieu naturel

Pour l'ensemble des études, la production primaire du périphyton de la rivière Malbaie est relativement élevée. En effet, la production primaire moyenne à la station en amont pour les quatres années d'études est de $5,35 \pm 4,10 \text{ mg C/m^2/d}$ (valeurs moyennes journalières calculées à partir des valeurs moyennes par heure) alors quelle est généralement inférieure à $0,21 \text{ mg C/m^2/d}$ pour des rivières du Bouclier canadien ne drainant pas des terres agricoles (Naiman, 1983; Peterson *et al.*, 1986). Malgré ces valeurs élevées et en accord avec les résultats de Bothwell et Stockner (1980), la présence de cet effluent de la fabrique de pâtes et papiers se traduit, pour les communautés se développant dans la zone de mélange de l'effluent et dans nos conditions d'expérimentation, par le maintien voire même une augmentation de l'activité photoautotrophe. Malgré des conditions, *à priori*, défavorables à la croissance microalgale (forte toxicité potentielle notamment), la communauté périphytique est caractérisée par une efficience photosynthétique au moins équivalente à celle observée à la station en amont (figure 4.11).

L'allocation préférentielle du carbone inorganique dans les lipides à la station en aval (figures 4.13, 4.14 et 4.15) témoigne de l'adaptation photosynthétique de cette communauté qui se caractérise par une incorporation préférentielle dans les composés rapidement catabolisables (Li, 1980; Lancelot, 1984, Guckert *et al.*, 1992; Wainman *et al.*, 1993). Cette adaptation métabolique dans la synthèse des produits terminaux de la photosynthèse a déjà été observée dans d'autres milieux (Amblard et Bourdier, 1990; Amblard *et al.*, 1990).

Par ailleurs, les valeurs d'activité photohétérotrophe mesurées à partir d'un mélange d'acides aminés (1989) ou de glucose (1990, 1991, 1993) sont systématiquement plus élevées à la station en aval qu'à la station en amont et cette différence apparaît statistiquement significative pour les études effectuées en 1990 et 1991. Pour la même période, l'assimilation chémohétérotrophe ne varie pas d'une station à l'autre. Cependant, cette absence de différence entre les stations pourrait être le résultat de la dilution du substrat marqué tel que discuté à la section 5.1.1.

Par ailleurs, l'incorporation préférentielle dans les protéines de la radioactivité associée aux substrats organiques tritiés pris en charge par cette voie d'assimilation photohétérotrophe, indiquent que les acides aminés et le glucose marqués ne sont probablement pas seulement absorbés. Ils sont, de toute évidence, aussi utilisés par les microorganismes pour la croissance et/ou la maintenance cellulaire (Morris, 1981; Thompson et Couture, 1989; Amblard *et al.*, 1990).

L'augmentation de l'activité photohétérotrophe, à l'aval du rejet, étant moins nette que l'augmentation de l'activité photoautotrophe, les valeurs du rapport assimilation photoautotrophe/assimilation photohétérotrophe (figure 5.2) sont, le plus souvent (dans 11 cas sur 17 situations), plus élevées à la station en aval qu'à la station en amont, malgré que ces différences n'ont pu être statistiquement mises en évidence. Cependant, cette comparaison doit être faite avec circonspection puisque le glucose (ou les acides aminés) ne représente, vraisemblablement, qu'une faible proportion des substrats organiques potentiellement disponibles. Par ailleurs, pour être rigoureuse, cette comparaison nécessite la mesure des concentrations réelles du substrat organique dans le milieu. En effet, tel que discuté à la section 5.1.1, les valeurs d'assimilation photohétérotrophe obtenues dans nos études sont dépendantes de la variation des concentrations du substrat entre les stations et représentent une sous-estimation des valeurs réelles.



Figure 5.2: Évolution du rapport assimilation photoautotrophe/assimilation photohétérotrophe pour les études réalisées en milieu naturel

En conditions contrôlées

Cette adaptation photosynthétique de la communauté périphytique, associée à une augmentation des capacités photohétérotrophes, a également été mise en évidence lors des essais en canaux expérimentaux (tableau 5.3). En effet, l'ajout de l'effluent à sa plus forte concentration (10% v/v) se traduit par une augmentation de l'assimilation photoautotrophe (figure 4.35) et de l'efficience photosynthétique (figure 4.36) par rapport au canal témoin. Dans les canaux 0,5 et 2,5% cet effet n'est cependant pas statistiquement significatif (p > 0,05). De la même manière, les valeurs d'assimilation photohétérotrophe obtenues après assimilation du glucose tritié ne sont pas proportionnelles aux concentrations croissantes d'effluent, mais sont systématiquement plus élevées dans le canal 10% par rapport au canal témoin.

Sous la réserve des éléments discutés précédemment pour les résultats en milieu naturel, ces observations se traduisent, à l'image des résultats obtenus en rivière, par des valeurs du rapport activité photoautotrophe/activité photohétérotrophe qui ne sont pas significativement différentes entre les canaux chargés en effluent et le canal témoin (figure 5.3).

De façon générale, dans les quatre canaux, aussi bien après assimilation photoautotrophe qu'après assimilation photohétérotrophe, l'incorporation du carbone inorganique et de la radioactivité liée au substrat tritié se font préférentiellement dans les lipides et les protéines. À l'instar des résultats obtenus lors des expérimentations en rivière, cette évolution met en évidence, d'une part, les capacités d'adaptation photosynthétique de la communauté périphytique face à l'apport en effluent et, d'autre part, l'utilisation probable du carbone organique dissous par ces mêmes microorganismes pour la croissance et/ou la maintenance cellulaire.



Figure 5.3: Évolution du rapport assimilation photoautotrophe/assimilation photohétérotrophe pour les études réalisées dans les canaux expérimentaux

À la lumière de ces observations, il apparaît donc que l'impact de l'effluent de pâtes et papiers sur les communautés périphytiques se traduit, dans la rivière Malbaie et dans les canaux expérimentaux, par une réponse adaptative de la communauté périphytique. Cette adaptation mène au développement d'une communauté périphytique dont les capacités de récupération ont été mises en évidence par les résultats des transferts des échantillonneurs lors de l'étude en rivière en 1990. Ainsi, lorsque les communautés sont transposées de la station polluée vers la station témoin, elles sont affectées par un affaiblissement à court terme de leur efficience photosynthétique, possiblement liée à la modification de la qualité de la lumière pénétrante. Cependant, malgré des changements drastiques des caractéristiques physico-chimiques de l'eau, ces communautés atteignent rapidement, par la suite, une efficacité d'assimilation photosynthétique équivalente à celles observées pour les communautés de la station hôtesse.

L'établissement d'une biomasse autotrophe élevée en présence de l'effluent, le maintien d'une efficience photosynthétique élevée, ainsi que l'évolution du rapport biomasse autotrophe / biomasse totale mettent en évidence les capacités d'adaptation de la communauté microalgale du périphyton, notamment au niveau du processus d'assimilation photosynthétique. Cette activité photosynthétique élevée en présence d'un effluent turbide pourrait être liée à un équipement pigmentaire plus efficient (Davis *et al.*, 1988) et à des adaptations chromatiques (Bothwell et Stockner, 1980). Cependant, dans nos conditions d'expérimentation, l'incubation du substrat artificiel près de la surface a probablement aussi contribuée à limiter l'impact de la hausse de la turbidité comme le reflète l'absence de corrélation entre la turbidité et l'efficience photosynthétique ($r_s = 0,52$ en 1989, $r_s = -0,51$ en 1990 et $r_s = 0,12$ en 1991). Par contre, les caractéristiques physico-chimiques de l'eau surnageante de la station en aval, avec un enrichissement en carbone organique dissous et une hausse de la turbidité. représentent également, à priori, des conditions favorables aux processus de photohétérotrophie microalgale. En effet, les eaux de cette station sont caractérisées, par une hausse de la turbidité, pouvant potentiellement affecter la qualité et la quantité d'énergie lumineuse disponible et aussi par une concentration élevée en carbone organique dissous, substrat potentiel du métabolisme photohétérotrophe. Ainsi, les concentrations en carbone organique dissous mesurées à la station en aval sont environ le double de celles mesurées à la station en amont, passant de 4 à 10 mg/L avec des valeurs maximales de 30 à 40 mg/L. Par rapport aux concentrations naturelles de plusieurs rivières du Bouclier canadien, ces concentrations sont relativement élevées (Hudon et Duthie, 1983; Hamilton et Duthie, 1984; Hudon et al., 1987) même si, pour des rivières dont le bassin de drainage comporte une grande superficie de milieux humides, des valeurs moyennes de 40 mg/L sont aussi régulièrement rencontrées (Eckart et Moore, 1996). Cependant, ces valeurs ne sont pas strictement comparables à celles mesurées à la station en aval la composition chimique des eaux naturelles du Bouclier canadien diffère de celle de l'effluent d'une usine de pâtes et papiers. En effet, sur le Bouclier canadien, la matière organique dissoute est dominée par les substances humiques (acides fulviques et humiques), qui sont reconnues pour leur récalcitrance. Par ailleurs, en aval de l'usine de pâtes et papiers, l'enrichissement en carbone organique par l'effluent résulte principalement de la présence en concentration élevée de composés labiles et plus facilement assimilables, tels les polysaccharides (McCubbin, 1984).

En mieu naturel comme dans les canaux expérimentaux, l'apport en effluent n'a pas affectée la biomasse autotrophe. De plus, l'activité photohétérotrophe est plus élevée malgré une biomasse totale (autotrophe + hétérotrophe) sensiblement équivalente à celle de la station en amont ou dans le canal témoin. Ce qui nous amène à considérer l'assimilation photohétérotrophe du carbone comme un processus nutritionnel pouvant conférer un avantage compétitif supplémentaire pour les espèces se développant préférentiellement en présence de l'effluent.

Plusieurs études ont démontré qu'un grand nombre d'espèces microalgales étaient capables d'incorporer le carbone organique dissous à des vitesses d'assimilation leur permettant d'entrer en compétition avec les bactéries (Ellis et Stanford, 1982; Saks, 1983; Moll, 1984; Bollman et Robinson, 1985). Ainsi, les fortes concentrations en substrats organiques, notamment en glucose, retrouvées, entre autres, dans les effluents de fabriques de pâtes et papiers, peuvent stimuler la croissance cellulaire microalgale chez certaines espèces qui sont finalement des microorganismes hétérotrophes facultatifs (Rosemarin *et al.*, 1985; Fairchild et Everett, 1988; Kautzky *et al.*, 1988; Amblard *et al.*, 1990). Selon Abeliovich et Weissman (1978) et, plus récemment, Cohen et Post (1993), le glucose pourrait représenter une source supplémentaire de carbone à la cellule et pourrait expliquer, en partie, le maintien d'une concentration élevée en pigments et ainsi un accroissement significatif de l'activité photosynthétique. Cependant, en l'absence de données dans ce sens dans nos études, cette observation nécessite des études complémentaires.

Par ailleurs, les résultats des études microautoradiographiques démontrent clairement que les espèces dominantes de la station en aval, les diatomées *Cymbella ventricosa* et *Cocconeis placentula*, ont la capacité d'assimiler et d'incorporer le carbone organique dissous puisque 91 à 96% des cellules de ces deux espèces sont marquées après incubation en présence de glucose tritié. Cette capacité hétérotrophe est beaucoup plus faible pour les deux espèces de diatomées dominantes à la station en amont, *Achnanthes minutissima* et *Tabellaria flocculosa* dont seulement 0 et 12% des cellules sont marquées respectivement. Ces résultats confirment ceux de l'étude de 1989 où les microautoradiogrammes ont mis en évidence la présence de

telles traces sur ces mêmes espèces à la station recevant l'effluent et aucune chez les espèces dominantes de la station témoin, après incubation en présence d'un mélange d'acides aminés tritiés.

Les mesures globales d'activité photohétérotrophe sur les cellules isolées de *T. flocculosa* et de *C. ventricosa* appuient fortement les résultats précédents. En effet, l'activité photohétérotrophe de *C. ventricosa*, espèce dominante de la station en aval, est 10 fois plus élevée que l'activité photohétérotrophe de *T. flocculosa*, espèce dominante de la station en amont (figure 4.24).

Au terme de cette étude, il apparaît donc que l'importance de la matière organique dissoute dans le développement des microalgues est plus appréciable que cela est généralement reconnue. Ainsi, la dominance de certaines espèces dans la zone recevant l'effluent peut s'expliquer, au moins en partie, par la flexibilité nutritionnelle de ces microorganismes. Ces capacités photohétérotrophes représenteraient, de toute évidence, un avantage compétitif pour les espèces, notamment les diatomées, qui se développent préférentiellement au niveau de la station recevant l'effluent.

5.4 Études en canaux expérimentaux et en milieu naturel: application en évaluation écotoxicologique

Depuis une à deux décennies, l'utilisation de canaux expérimentaux dans le but de suivre le comportement et les effets des contaminants dans l'environnement a cru considérablement (Pontasch, 1995).

Cet intérêt grandissant vis-à-vis de l'utilisation des canaux expérimentaux vient du fait qu'ils permettent un contrôle plus ou moins étroit des variables physico-chimiques qui agissent sur le développement du périphyton. Les canaux expérimentaux les mieux contrôlés permettent d'isoler un petit nombre de variables et facilitent ainsi l'interprétation des observations alors que les systèmes les moins contrôlés se rapprochent plus des conditions du milieu (Clark *et al.*, 1980).

Dans nos conditions d'étude, les canaux expérimentaux ont effectivement facilité cette évaluation des réponses structurelles et fonctionnelles (tableau 5.1) en permettant le maintien d'un écosystème lotique à un degré de complexité similaire à celui de la communauté naturelle tout en limitant la variabilité des variables physico-chimiques du milieu (tableau 5.2). Cependant, la recherche d'un meilleur contrôle des variables physico-chimiques a aussi contribué au développement d'une communauté périphytique dont les réponses structurelles et fonctionnelles diffèrent quelque peu entre les canaux expérimentaux et le milieu naturel.

Ainsi, les changements de structure de la communauté, tels que la variation de l'abondance relative des espèces ou encore les variations de la productivité primaire sont principalement déterminées par la vitesse du courant (McIntire, 1966; McCabe *et al.*, 1985; Steinman et McIntire, 1986). En effet, un courant trop faible dans les systèmes expérimentaux peut mener au développement d'une communauté très différente de celle du milieu. Or, bien que la vitesse du courant dans les canaux ait été ajustée en fonction de celle observée en rivière en début d'expérimentation, les fréquentes variations de vitesse du courant de la rivière liées à son régime hydraulique pourraient expliquer, en partie, les différences de structure notées entre les essais en canaux expérimentaux et les observations faites en milieu naturel. En effet, bien qu'aucune information n'ait été receuillie quant aux débits moyens quotidiens ou hebdomadaires lors de la période d'études, les débits moyens mensuels de la rivière (entre 53,8 et 16,7 m³/s respectivement au mois d'août et juin 1989; Environnement Canada, 1992) mettent clairement en lumière l'importante variabilité du régime hydraulique de cette dernière. Par ailleurs, les vitesses de courant assez élevées potentiellement atteintes en milieu

naturel, auraient probablement favorisé une activité autotrophe plus intense et, par le fait même, le développement d'une biomasse microalgale plus importante puisqu'en canaux expérimentaux la vitesse était maintenue constante à environ 5 cm/sec. En effet, l'augmentation de la vitesse du courant jusqu'à des valeurs de l'ordre de 50 à 60 cm/sec (Ball *et al.*, 1969; Horner et Welch, 1981) a pour effet de réduire l'épaisseur de la zone morte qui s'installe autour des cellules et d'accélérer ainsi la diffusion d'éléments nutritifs entre la solution et la surface cellulaire (Whitford, 1960; Nelson et Scott, 1962; Duffer et Dorris, 1966; Weitzel, 1979).

Les valeurs d'irradiation lumineuse plus élevées au niveau des lames incubées en milieu naturel peuvent aussi expliquer, en partie, les différences fonctionnelles et structurelles observées entre les canaux et le milieu naturel. En effet, plusieurs auteurs ont démontré qu'il existe un lien direct entre la production primaire et l'irradiation lumineuse atteignant le périphyton (Gregory, 1980; Triska et al., 1983; Duncan et Brunsven, 1985; Amblard et Couture, 1990). Bien que les lames aient été maintenues à des profondeurs équivalentes, soit environ 5 cm sous la surface, l'énergie solaire incidente au niveau des lames était significativement plus élevée en milieu naturel quelque soit la station. L'irradiation lumineuse pouvait même atteindre des valeurs de saturation de l'ordre de 200 à 400 μ E/m/s (Jasper et Bothwell, 1986). Selon Hudon et Bourget (1981) certaines espèces de diatomées sont sensibles à l'intensité d'éclairement alors que d'autres semblent peu affectées par ce facteur (Steinman et McIntire, 1986; Antoine et Benson-Evans, 1983). Ainsi, l'importance relative des cyanophycées et des chlorophycées plus élevée en rivière est possiblement aussi du résultat de leur plus grande tolérance à de fortes irradiations lumineuses (Weitzel, 1979; Shortreed et Stockner, 1983; Steinman et McIntire, 1987). Enfin, l'absence de variabilité de l'énergie lumineuse en laboratoire pourrait expliquer la faible variabilité temporelle de la composition spécifique du périphyton se développant dans les canaux expérimentaux (Steinman et McIntire, 1986, 1987).

Pour la fraction autotrophe du périphyton et en particulier pour les diatomées, l'azote, le phosphore et la silice représentent également des facteurs limitatifs potentiels. Dans les eaux de la rivière Malbaie, les concentrations en silice et en azote (principalement sous la forme de nitrites et de nitrates) diffèrent significativement de l'amont à l'aval et les concentrations à la station en aval sont nettement plus élevées que celles mesurées dans les canaux chargés en effluent. En fait, l'azote peut représenter un facteur stimulant important (Redfield, 1958; Rhee, 1978; Stockner et Shortreed, 1978; Gregory, 1980) lorsque la concentration en phosphore n'est pas un facteur limitant. Ainsi, l'apport en NO₂-NO₃ significativement plus élevé à la station en aval, contrairement aux canaux contenant l'effluent, a donc possiblement favorisé le développement de certaines espèces et mené à la formation d'une structure adaptée aux caractéristiques du milieu. Cette hypothèse est renforcée par les valeurs des coefficients de corrélation de Spearman, significatifs à p<0,05, entre la biomasse microalgale et les concentrations en nitrites et nitrates ($r_s = 0,77, 0,69$ et 0,68 respectivement en 1989, 1990, 1991) pour les études réalisées en rivière et non significatives pour les essais en canaux (respectivement en 1990 et 1991; $r_s = 0,39$ et 0,42).

Par ailleurs, selon Patrick (1948) cité par Reynolds (1984), la croissance des diatomées dans les eaux naturelles et la composition spécifique des communautés sont dépendantes des concentrations en silice jusqu'à une concentration limite donnée, qui serait selon Schelske et Stoermer (1971) de l'ordre de 0,1 mg/L de SiO₂. Il est donc peu probable que l'apport significativement plus élevé en silice observé à la station en aval ait contribué à l'évolution de la biomasse microalgale et à la mise en place de la structure observée. Cette hypothèse est supportée par l'absence, à la station aval, de relation significative (coefficient de Spearman) entre la biomasse microalgale (chlorophylle-*a*) et la silice ($r_s < 0,75$, p>0,05) à l'image de l'ensemble des canaux chargés en effluent ($r_s < 0,49$, p > 0,05). À la lumière des observations précédentes, l'utilisation de canaux expérimentaux en appui aux études en milieu naturel semble donc tout à fait pertinente pour étudier les réponses structurelles et fonctionnelles des communautés périphytiques à une exposition à un effluent industriel (Clark *et al.*, 1980). En effet, comme nous l'avons démontré dans les sections précédentes, cette approche nous a permis de préciser notre compréhension des changements de la structure de la communauté périphytique se développant à la station polluée de la rivière Malbaie par rapport à la station en amont, grâce aux divergences observées dans les canaux expérimentaux en présence et en absence d'effluent. Par ailleurs, ces mêmes divergences, nous ont permis de mettre en évidence la présence d'éléments confondants en milieu naturel tel l'apport d'éléments nutritifs par les eaux du ruisseau se déversant àa la station en aval.

Comme le mentionne Pontasch (1995), des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer l'écart acceptable entre les conditions du milieu naturel et les conditions contrôlées des canaux expérimentaux. Cependant, selon Calow (1995), la seule voie pour identifier les liens causaux avec le plus de certitude est d'associer les observations effectuées sur le terrain avec un programme expérimental. Selon ce même auteur, la validation des hypothèses écologiques définies à partir des observations effectuées en milieu naturel à l'aide d'expérimentations contrôlées, devrait être effectuée sur une base régulière en écologie et en écotoxicologie.

CHAPITRE VI CONCLUSION

Le défi de l'écotoxicologie aquatique, et des programmes de suivi et de surveillance qui en découlent, est de développer des approches d'étude des perturbations environnementales qui permettent, non seulement d'évaluer, mais aussi de prédire les impacts écologiques d'une contamination à partir d'indicateurs écologiques.

Tel que le démontrent nos résultats, la complexité des écosystèmes rend difficile la mise en évidence des liens causaux à partir d'observations directes dans le milieu. L'une des voies à privilégier pour établir de tels liens avec plus de certitude est d'associer aux observations de terrain un programme expérimental en laboratoire (Calow, 1995). Le principal avantage d'une telle approche, en recherche fondamentale comme en gestion environnementale, est de permettre une évaluation directe des effets observés en rivière à partir des mêmes communautés mais se développant sous des conditions contrôlées ou plus facilement caractérisables. De cette manière, l'interprétation des observations est grandement facilitée puisqu'en général dans les canaux expérimentaux, la cause et l'effet sont bien dissociés.

À la lumière de nos résultats, nous constatons, d'une part, que la réponse des communautés microalgales périphytiques aux perturbations d'origine anthropique et naturelle du milieu est encore peu connue. En effet, nos travaux indiquent que le maintien de la communauté microalgale périphytique fait intervenir des processus d'adaptation qui sont peu ou pas pris en compte dans les études fondamentales ou de suivi environnemental. D'autre part, des recherches supplémentaires sont aussi nécessaires pour définir les caractéristiques souhaitables des canaux expérimentaux et établir l'écart acceptable de variabilité des variables abiotiques en milieu naturel par rapport aux canaux expérimentaux. En effet, nos travaux démontrent que le contrôle des variables physico-chimiques dans des systèmes

artificiels nécessite une bonne connaissance de la variabilité inhérente aux variables mesurées dans le milieu à l'étude. Ainsi, le devis expérimental doit cibler les variables convenant le mieux aux objectifs de l'étude et identifier celles permettant à l'évaluateur d'obtenir un pouvoir de discrimination suffisant pour mettre en évidence les différences éventuelles entre le milieu naturel et le milieu perturbé. En attendant, pour être en mesure de tester adéquatement des hypothèses, les conditions environnementales de l'enceinte expérimentale, telles que les caractéristiques chimiques de l'eau, la vitesse du courant, l'intensité et la qualité de la lumière, la photopériode ainsi que la température, devraient être ajustées le plus fidèlement possible aux conditions du milieu à l'étude.

Malgré tout, par une telle approche impliquant des études en milieu naturel et en canaux expérimentaux au laboratoire, nous avons été en mesure de mettre en lumière la flexibilité fonctionnelle, notamment nutritionnelle, des microalgues périphytiques et leur capacité à s'adapter rapidement pour répondre aux conditions fluctuantes de leur environnement.

À notre connaissance, peu de travaux se sont attachés à l'étude, en milieu naturel, des conséquences écologiques des capacités hétérotrophes des microalgues périphytiques en présence d'effluents chargés en carbone organique dissous. Il existe, par ailleurs, peu de travaux précisant l'allocation des substrats organiques dans les macromolécules après assimilation photohétérotrophe chez les microalgues soumises aux déversements d'effluents industriels.

Nos travaux ont permis d'acquérir de nouvelles informations nécessaires à la compréhension de la capacité compétitive des espèces microalgales périphytiques. Ainsi, la structure de la communauté microalgale se développant à la station affectée par la présence de l'effluent est explicable, en partie, par l'adaptation du système photosynthétique des espèces qui la

composent. Le maintien de l'efficience photosynthétique, malgré des conditions potentiellement toxiques, est probablement rendue possible grâce, d'une part, à des adaptations chromatiques et/ou au développement d'espèces avec un équipement pigmentaire plus efficient (Bothwell et Stockner,1980; Davis *et al.*, 1988) et, d'autre part, aux conditions expérimentales limitant les effets inhibiteurs de la turbidité de l'effluent.

Cependant, nous avons aussi observé que certaines espèces de microalgues qui dominent la communauté se développant au niveau de l'effluent ont également la capacité d'assimiler les substrats organiques par photohétérotrophie. Ces espèces incorporent ces substrats organiques dans les macromolécules et les utilisent, par conséquent, pour la croissance et/ou la maintenance cellulaire. La photohétérotrophie fournit donc une source supplémentaire de matière et d'énergie pouvant expliquer, en partie, la présence de certaines espèces de microalgues dans un tel milieu.

Tous les processus d'un écosystème présentent une variabilité naturelle perceptible à différentes échelles spatiales et temporelles. Aussi, est-il, en général, très difficile de dissocier les changements résultant d'une activité anthropique de la variabilité naturelle. En conséquence, nous n'avons pu mettre en évidence qu'un petit sous-ensemble des changements affectant la structure et le fonctionnement de l'écosystème. Les critères ou les éléments devant être pris en compte pour caractériser ces changements doivent donc s'établir sur nos connaissances actuelles, elles-mêmes en général basées sur des principes écologiques établis. Dans cette perspective, le rôle écologique des capacités photohétérotrophes des microalgues ne peut plus être négligé dans les études visant à comprendre la dynamique des peuplements en milieu naturel ou perturbé.

À notre avis, des investigations supplémentaires sont maintenant encore plus justifiées afin de préciser nos connaissances dans ce domaine. Ainsi, nous n'avons pas déterminé dans quelle mesure les substrats organiques sont biodisponibles pour les microalgues en fonction des concentrations ambiantes. De plus, la démonstration, hors de tout doute, que les microalgues ont des systèmes de transport d'affinité élevée leur permettant d'être compétitives par rapport aux bactéries aux concentrations naturelles de substrats organiques reste à faire. Cependant, les travaux de développement visant à isoler les capacités photohétérotrophes respectives à l'intérieur d'une communauté naturelle se heurtent actuellement à d'importantes difficultés techniques reliées à leur lourdeur d'application, bien que les études microautoradiographiques paraissent une avenue prometteuse.

Finalement, nos études tendent à indiquer que le carbone organique dissous assimilé par photohétérotrophie est utilisé par le métabolisme microalgal pour le maintien et/ou la croissance cellulaire. Par conséquent, il est important de définir la contribution relative des substrats organiques par rapport au carbone inorganique dissous comme source de carbone et d'énergie pour la croissance cellulaire. De plus, les mécanismes physiologiques permettant l'utilisation efficace des substrats organiques pour la croissance microalgale doivent être précisés.

Les implications potentielles de telles informations sont de deux ordres. Elles sont tout d'abord écologiques en permettant d'affiner notre compréhension des mécanismes physiologiques impliqués dans le phénomène de tolérance et par conséquent sur les mécanismes qui soutiennent les capacités compétitives des espèces microalgales. Elles présentent, par ailleurs, un intérêt appliqué en gestion environnementale puisque le fonctionnement d'un métabolisme hétérotrophe ou photohétérotrophe notable chez plusieurs espèces de microalgues pourrait, par exemple, être exploité dans le cadre de l'optimisation d'un programme d'assainissement des eaux tant au niveau de la filtration biologique qu'au niveau de la restauration des milieux.

CHAPITRE VII BIBLIOGRAPHIE

ABELIOVICH, A. et D. WEISSMAN (1978). Role of heterotrophic nutrition in growth of the alga *Scenedesmus obliquus* in high-rate oxidation ponds. Appl. Environ. Microbiol., 35: 32-37.

AHLBORG, I.G. et T.M. THUNBERG (1980). Chlorinated phenols: Occurrence, toxicity, metabolism and environmental impact. CRC Crit. Rev. Toxicol., July 1980, 1-34.

ALOI, S.E. (1990). A critical review of recent freshwater periphyton field methods. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 47: 666-670.

AMBLARD, C. (1986). Les nucléotides adényliques: intérêts pour l'étude de la biomasse, de l'activité métabolique et de la structure des peuplements phytoplanctoniques lacustres. Thèse Doct. Etat., Univ. Clermont II, 317 p.

AMBLARD, C. (1988). Seasonal succession and strategies of phytoplankton development in two lakes of different trophic states. J. Plankton Res., 10: 1189-1208.

AMBLARD, C. et G. BOURDIER (1990). The spring bloom of the diatom *Melosira italica* subsp. subartica in Lake Pavin: biochemical, energetic and metabolic aspects during sedimentation. J. Plankton Res., 12: 645-660.

AMBLARD, C. et P. COUTURE (1990). Structure et fonctionnement des communautés périphytiques en présence d'effluent d'une fabrique de pâtes et papier: approche toxicologique en conditions contrôlées. INRS-Eau. Rapport scientifique no 269, 104 p. AMBLARD, C., P. COUTURE et G. BOURDIER (1990). Effects of pulp and paper mill effluent on the structure and metabolism of periphytic algae in experimental streams. Aquat. Toxicol., 18: 137-162.

AMBLARD, C. et H. El MAGOURI (1985). Incidence de la méthode d'extraction des nucléotides adényliques sur les valeurs de la charge énergétique des peuplements microplanctoniques. Rev. Fr. Sci. Eau., 4: 277-292.

AMBLARD, C., S. RACHIQ et G. BOURDIER (1992). Photolithotrophy, photoheterotrophy and chemoheterotrophy during spring phytoplankton development (lake Pavin). Microb. Ecol., 24: 109-123.

ANTOINE, S.E. et K. BENSON-EVANS (1983). The effect of light intensity and quality on the growth of benthic algae. II Population dynamics. Arch. Hydrobiol., 99: 118-128.

APHA., AWWA et WFCF (1985). Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th ed., American Public Health Association, 1268 p.

AUSTIN, A., S. LONG et M. POMEROY (1981). Simple methods for sampling periphyton with observations on sampler design criteria. Hydrobiologia, 85: 33-47.

AZAM, F. et O. HOLM-HANSEN (1973). Use of tritiated substrates in the study of heterotrophy in sea-water. Mar. Biol., 23: 191-196.

BAIER, R. (1972). Influence of the initial surface condition of materials on bioadhesion. Proc. Int. Conf. Mar. Corrosion Fond., 3: 633-639. BAKER, M.D., C.I. MAYFIELD et W.E. INNISS (1980). Degradation of chlorophenols in soil, sediment and water at low temperature. Water Res., 14: 1765-1771.

BALL, R., N. KEVERN et L. LINTON (1969). The Red Cedar River Report. II. Bioecology. Publ. Mus. Mich. State Univ. Biol. Ser., 4: 107-157.

BAMFORTH, S.S. (1982). The variety of artificial substrates used for microfauna. *In*: Artificial Substrates. Cairns, J. Jr. (Ed.) Ann Arbor Science Publishers, 115-129.

BARNUM, S.R. et S.M. GENDEL (1987). Heterotrophic growth of nine strains of filamentous cyanobacteria. Iowa State J. Res., 62: 147-159.

BEHNING, A. (1928). Das Lebender Wolga. Zugleich eine Einfuhrung in de Fluss-Biologie. In Thienemann, A., (Ed.), Die Binnengewasser V., Stuttgarat, 162 p.

BERMAN, T. (1975). Size fractionation of natural aquatic populations associated with autotrophic and heterotrophic carbon uptake. Mar. Biol., 33: 215-220.

BIRD, D.J. et J. KALFF (1986). Bacterial grazing by planktonic lake algae. Science, 231: 493-495.

BLAISE, C., R. VAN COILLIE, N. BERMINGHAM et G. COULOMBE (1987). Comparaison des réponses toxiques de trois indicateurs biologiques (bactéries, algues, poissons) exposés à des effluents de fabriques de pâtes et papiers. Rev. Int. Sci. Eau, 3: 9-17. BLINN, D.W., A. FREDERICKSEN et V. KORTE (1980). Colonization rates and community structure of diatoms on three different rock substrata in a lotic system. Br. Phycol. J., 15: 303-310.

BOLLMAN, R. et G. ROBINSON (1985). Heterotrophic potential of the green algae, *Ankistrodesmus braunii* (Naeg.). Can. J. Microbiol., 31: 549-554.

BONNER, J. et J.E. VARNER (1976). Academic Press, N.Y. 925p.

BOTHWELL, M.L. (1983). All-weather troughs for periphyton studies. Water Res., 17: 1735-1747.

BOTHWELL, M.L. (1985). Phosphorus limitation of lotic periphyton growth rates: An intersite comparison using continuous-flow troughs (Thompson River System, British Columbia). Limnol. Oceanogr., 30: 527-542.

BOTHWELL, M.L. et J.G. STOCKNER (1980). Influence of secondarily treated Kraft mill effluent on the accumulation rate of attached algae in experimental continuous-flow troughs. Can. J. Fish. Aquat.Sci., 37: 248-254.

BOTT, T.L. et F.P. RITTER (1981). Benthic algal productivity in a Piedmont stream measured by ¹⁴C and dissolved oxygen changes procedures. J. Freshwater Ecol., 1: 267-277.

BOURDIER, G. et J. BOHATIER (1987). Illustration de l'activité photosynthétique du phytoplancton par des techniques autoradiographiques. Ann. Sci. Naturelles Zoologie, 8: 75-79.
BOURDIER, G., J. BOHATIER, M. FEUILLADE et J. FEUILLADE (1989). Amino acid incorporation by a natural population of *Oscillatoria rubescens*, a microautoradiographic study. FEMS Microbiol. Ecol., 62: 185-190.

BROOK, A.J. (1955). The aquatic fauna as an ecological factor in studies of the occurrence of freshwater algae. Revue Algologique, 1: 142-145.

BROWN, M.D. (1976). A comparison of the attached algal communities of a natural and an artificial substrate. J. Phycol., 12: 301-306.

CAIRNS, J.Jr. et K.L. DICKSON (1971). A simple method for the biological assessment of the effects of waste discharges in aquatic bottom dwelling organisms. Journal WPCF, 755-771.

CALOW, P. (1995). Methods to assess the effects of chemicals on fresh waters. *In*: Effects of chemicals on ecosystems. R.A. Linthurst, P. Bourdeau et R.G. Tardiff (Eds). John Wiley & Sons Publishers. pp. 113-124.

CAMPBELL, H. (1972). An experimental investigation into effects of pulp mill effluent on structure of biological communities in Albemi Inlet B.C. Int. J. Environ. Stud., 4: 269-282.

CASTENHOLZ, R.W. (1960). Seasonal changes in the attached algae of freshwater and saline lakes in the Lower Grand Coulee, Washington. Limnol. Oceanogr., 5: 1-25.

CASTERLIN, M.E. et W.W. REYNOLDS (1977). Seasonal algal succession and cultural eutrophication in a north temperate lake. Hydrobiologia, 54: 99-108.

CATTANEO, A. (1987). Periphyton in lakes of different trophy. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 44: 296-303.

CATTANEO, A. et J. KALFF (1978). Seasonal changes in the epiphyte community of natural and artificial macrophytes in Lake Memphremagog (Que-Vt.). Hydrobiologia, 60: 135-144.

CATTANEO, A. et J. KALFF (1980). The relative contribution of aquatic macrophytes and their epiphytes to the production of macrophytes beds. Limnol. Oceanogr., 25: 280-289.

CATTANEO, A., G. METHOT, B. PINEL-ALLOUL, T. NIYONSENGA et L. LAPIERRE. (1995) Epiphyte size and taxonomy as biological indicators of ecological and toxicological factors in lake Saint-François (Quebec). Environ. Pollut., 87: 357-372.

CHESSMAN, B.C. (1985). Artificial-substratum periphyton and water quality in the lower La Trobe River, Victoria. Aust. J. Mar. Freshwater Res., 36: 855-871.

CHOLNOKY, B.J. (1958). Beitrag zu den Diatomeenassoziationen des Sumpfes Olifantsvlei sudwestlich Johannesburg. Ber. Deutsch. Bot. Ges., 71: 177-187.

CLARK, J.R., K.L. DICKSON et J. CAIRNS (1979). Estimating aufwuchs biomass. *In*: Methods and measurements of periphyton communities: a review, Wetzel, R.G. (Ed.) ASTM. Philadelphia, p. 116-141.

CLARK, J.R., J.M. RODGERS, K.L. DICKSON et J. CAIRNS (1980). Using artificial streams to evaluate perturbation effects on Aufwuchs structure and function. Water Resour. Bull., 16: 100-104.

CLEMENTS, W.H. et D.M. KIFFNEY (1993). Integrated labaratory and field approach for assessing impacts of heavey metals at the Arkansas River, Colorado. Environ. Toxicol. Chem., 13: 397-404.

CMRE (1991). Recommandations pour la qualité des eaux au Canada. Document préparé par le Groupe de travail sur les recommandations pour la qualité des eaux du Conseil Canadien des Ministres des Ressources et de l'Environnement. IX sections.

COHEN, I. et A.F. POST (1993). The heterotrophic connection in a photoautotrophic *Chlorella vulgaris* dominant in water oxidation ponds. Wat. Sci. Technol., 27: 151-155.

COLLINS, G.B. et I.W. CORNELIUS (1978). Phycoperiphyton (algae) as indicators of water quality. Trans. Amer. Micros. Soc., 97: 36-43.

COOKE, W.B. (1956). Colonization of artificial bare areas by microorganisms. Bot. Rev., 22: 613-638.

COSTE, M. (1978). Sur l'utilisation des diatomées benthiques pour l'appréciation de la qualité biologique des eaux courantes - méthodologie comparée et approche typologique. Thèse Doct. Sciences, Univ. Franche Comté, 143 p.

COUILLARD, D. et R. TRUDEL (1981). Influences des rejets d'usines de pâtes et papiers sur les macroinvertébrés, les bactéries et l'eutrophisation d'une rivière. Water Res., 15: 1331-1342. CROSSEY, M.T. et W. LAPOINT (1988). A comparison of periphyton community structural and functional responses to heavy metals. Hydrobiologia, 162: 109-121.

CUKER, B.E. (1983). Grazing and nutrient interaction in controlling the activity and composition of the epilithic algal community of an arctic lake. Limnol. Oceanogr., 28: 133-141.

CUSHING, C.E. et E.G. WOLF (1984). Primary production in Rattle Snake Springs, a cold desert spring-stream. Hydrobiologia, 114: 229-236.

DANFORTH, W.F. (1962). Substrate assimilation and heterotrophy. *In*: Physiology and Biochemistry of Algae. Lewin, R.A. (Ed.) Academic Press, New-York, pp. 99-123.

DARLEY, W.M., C.T. OHLMAN et B.B. WIMPEE (1979). Utilization of dissolved organic carbon by natural populations of epibenthic salt marsh diatoms. J. Phycol., 15: 1-5.

DAVIS, T.M., B.D. VANCE et J.H. RODGERS (1988). Productivity responses of periphyton and phytoplancton to bleach-Kraft mill effluent. Aquat. Toxicol., 12: 83-106.

DENCE, C.W., C.J. WANG et R. DURKIN (1980). Toxicity reduction through chemical and biological modification., EPA-600/2-80-039, Washington, D.C..

DOUGLAS, B. (1958). The ecology of the attached diatoms and other algae in a small stony stream, J. Ecol., 46: 295-322.

DROOP, M.R. (1974). Heterotrophy of carbon. *In*: Algal physiology and biochemistry, Stewart W.D.(Ed.) Univ. Calif. pp. 530-559.

DUFFER, W. et T.C. DORRIS (1966). Primary productivity in a southern great plains stream. Limnol. Oceanogr., 11: 143-151.

DUGAN, P.R. (1972). Biochemical Ecology of Water Pollution. Plenum Press, New York.

DUNCAN, W.F. et M.A. BRUNSVEN (1985). Energy dynamics of three low-order Alaska streams: autochthonous production. J. Freshwater Ecol., 3: 155-166.

DURKIN, P.R. (1978). Biological impact of various chlorinated phenolics and related compounds on *Daphnia magna*. Tappi, 164-169.

EATON, T.W. et B. MOSS (1966). The estimation of numbers and pigment content in epipelic algal populations. Limnol. Oceanogr., 11: 584-595.

ECKHARDT, B.W. et T.R. MOORE (1990). Controls on dissolved organic carbon concentrations in streams, southern Québec. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 47: 1537-1544.

EICHENBERGER, F. (1975). On the quantitative effects of chemical factors on running water ecosystems. Schweiz. Z. Hydrol., 37: 21-34.

ELLIS, B.K. et J.A. STANFORD (1982). Comparative photoheterotrophy, chemoheterotrophy and photolithotrophy in a eutrophic reservoir and an oligotrophic lake. Limnol. Oceanogr., 27: 440-454. ELORANTA, V., L, HALTTUNEN-KEYRILAINEN et K. KUIVASNIEMI (1984). La toxicité aigüe des effluents des usines de papier "Kraft" pour l'algue *Selenastrum* et pour le phytoplancton naturel. Sci. Tech. Eau, 17: 267-274.

ELWOOD, J.W. et D.J. NELSON (1972). Periphyton production and grazing rates in a stream measured with a ³²P material balance method. Oikos, 23: 295-303.

ENNIS, G.L. et L.J. ALBRIGHT (1982). Distribution and abundance of periphyton and phytoplankton species in two subarctic Canadian rivers. Can. J. Bot., 60: 224-236.

ENVIRONNEMENT CANADA (1992). Sommaire chronologique de l'écoulement jusqu'à 1990. Québec. Direction générale des eaux intérieures. Longueuil, Ottawa p.217.

EVANS, D. et J.G. STOCKNER (1972). Attached algae on artificial and natural substrates in lake Winnipeg, Manitoba. J. Fish. Res. Board Can., 29: 31-44.

FAIRCHILD, B.W. et A.C. EVERETT (1988). Effects of nutrients (N, P, C) enrichment upon periphyton standing crop, species composition and primary in an oligotrophic softwater lake. Freshwater Biol., 19: 57-70.

FAIRCHILD, G.W., R.L. LOWE et W.B. RICHARDSON (1985). Algal periphyton growth on nutrient-diffusing substrates: an in situ bioassay. Ecology, 66: 465-472.

FEMINELLA, J.W., M.E. POWER et V.H. RESH (1989). Periphyton responses to invertebrate grazing and riparian canopy in three Northern California coastal streams. Freshwater Biol., 22: 445-457.

FEUILLADE, M., J. BOHATIER, G. BOURDIER, G. DUFOUR, P.H. FEUILLADE et H. KRUPKA (1988). Amino acid uptake by a natural population of *Oscillatoria rubescens* in relation to uptake by bacterioplankton. Arch. Hydrobiol., 113: 345-358.

FEUILLADE, M. et M. KRUPKA (1986). Assimilation des acides aminés par Oscillatoria rubescens D.C. (Cyanophycée). Archiv. Hydrobiol., 107: 441-463.

FLYNN, K.J. et I. BUTTLER (1986). Nitrogen sources for the growth of marine microalgae: role of dissolved free amino acids. Mar. Ecol., 34: 281-304.

FUHRMAN, J.A. et G.B. McMANUS (1984). Do bacteria-sized marine eucaryotes consume significant bacterial production? Science, 224: 1257-1260.

GERHART, D., S.M. ANDERSON et J. RICHTER (1977). Toxicity bioassays with periphyton communities: design of experimental streams. Water Res., 11: 567-570.

GIESY, J.P. et P.M. ALLRED (1985). Replicability of aquatic multispecies test systems. *In*: Multispecies toxicity testing. J.Cairns Jr. (Ed.). Pergamon Press. Elmsford. New-York. pp. 187-247.

GOLDMAN, C.R. et E. De AMEZOZA (1975). Primary productivity in the littoral zone of lake Tahoe California-Nevada, Symp. Biol. Hung., 15: 49-62.

GOLDSBOROUGH, L., G. ROBINSON et S. BURNEY (1986). An enclosure-substratum system for in-situ ecological studies of periphyton. Arch. Hydrobiol., 106: 373-394.

GOUVERNEMENT DU QUÉBEC (1991). Les effluents des usines de pâtes et papiers du Québec: Bilan annuel de conformité environnementale 1990. Ministère de l'Environnement, Direction des programmes sectoriels, Québec. 113 p.

GREGORY, S.Y. (1980). Effects of light, nutrients and grazing on periphyton communities in streams. Ph.D. dissertation, Oregon State University, Corvallis, OR. 151 p.

GUCKERT, J.B., S.C. NOLD, H.L. BOSTON et D.C. WHITE (1992). Periphyton response in an industrial receiving stream: Lipid-based physiological stress analysis and pattern recognition of microbial community structure. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 49: 2579-2587.

HAFFNER, G.D., M.L. YALLOP et P.D.N. HEBERT (1988). Heterotrophic glucose assimilation in lake Ontario. J. Great Lakes Res., 14: 157-163.

HALEY, R.K., T.J. HALL et T.M. BOUSQUET (1995). Effects of biologically treated bleached-Kraft mill effluent before and after mill conversion to increased chlorine dioxide substitution: Results of an experimental streams study. Environ. Toxicol. Chem., 14: 287-298.

HAMALA, J.A., S.W. DUNCAN et D.W. BLINN (1981). A portable pump sampler for lotic periphyton. Hydrobiologia, 80: 189-191.

HAMILTON P.B. et H.C. DUTHIE (1984). Periphyton colonization of rock surfaces in a boreal forest stream studied by scanning electron microscopy and track autoradiography. J. Phycol. 20:525-532.

HAMILTON, R.D. et O. HOLM-HANSEN (1967). Adenosine triphosphate content of marine bacteria. Limnol. Oceanogr., 12: 319-324.

HARGER, M. (1973). Marine interdidal community responses to Kraft pulp mill effluent. Water Air Soil Pollut, 3: 107-122.

HART, D.D. (1981). Foraging and resource patchiness: field experiments with a grazing stream-insect. Oikos, 37: 46-52.

HEALEY, F.B. (1973). Characteristics of phosphorus deficiency in *Anabaena*. J. Phycol., 9: 383-394.

HELLEBUST, J. et J. LEWIN (1977). Heterorophic nutrition, p. 169-197. *In*: The Biology of Diatoms. Werner D. (Ed.), Blackwell Scientific Publications, Oxford.

HOAGLAND, K.D., S.C. ROEMER et J.R. ROSOWSKI (1982). Colonization and community structure of two periphyton assemblages with emphasis on the diatoms (Bacillariophyceae). Am. J. Bot., 62: 188-213.

HOFSTRA, J.J. (1977). Chlorate toxicity and nitrate reductase activity in tomato plants. Physiol. Plant., 41: 65-69.

HOOPER, N.M. et G.G.C. ROBINSON (1976). Primary production of epiphytic algae in a marsh pond. Can. J. Bot., 54: 2810-2815.

HOPPE, H.G. (1976). Determination and properties of actively metabolizing heterotrophic bacteria in the sea, investigated by means of microautoradiography. Mar. Biol., 36: 291-302.

HORNER, R.R. et E.B. WELCH (1981). Stream periphyton development in relation to current velocity and nutrients. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38: 449-457.

HORNER, R.R., E.B. WELCH et R.B. VEENSTRA (1983). Development of nuisance periphytic algae in laboratory streams in relation to enrichment and velocity. *In*: Periphyton of freshwater ecosystems, R.G. Wetzel et W. Junk (Eds)., chap.16, pp. 121-134.

HUDON, C. et E. BOURGET (1981). Initial colonization of artificial substrate: community development and structure studied by scanning electron microscopy. Can. J. Fish. Aquat. Aci., 38:1371-1384.

HUDON, C. et H.C. DUTHIE (1984). Physiological adaptations of periphytic assemblages in increasing densities: methods and preliminary results. Woods Hole Oceanogr. Inst. Tech. Rept. WHOI. 84: 97-109.

HUDON, C., H.C. DUTHIE et B. PAUL (1987). Physiological modifications related to density increase in periphytic assemblages. J. Phycol., 23:393-399.

HUNDING, C. (1971). Production of benthic microalgue in the littoral zone of a eutrophic lake. Oikos, 22: 389-397.

HUTCHINS, F.E. (1979). The toxicity of pulp and paper mill effluent: a literature review. EPA-60013-79-013 Environmental Research Laboratory, Corvallis, Oregon, USA., 53 p.

HYNES, H.B. (1970). The Ecology of Running Waters. University of Toronto Press, Toronto, Ontario, Canada, 555 p.

INGRAM, L.O., J.A. CALDER., C. VAN BOALEN, F.E. PLUCKER et P.L. PARKER (1973). Role of physiology of the blue-green bacteria (Algal): Photoheterotrophic growth of a "heterotrophic" blue-green bacterium. J. Bacteriol., 114: 695-700.

JACOBY, J.M. (1987). Alterations in periphyton characteristics due to grazing in a Cascade foothill stream Freshwater. Biol., 18: 495-508.

JASPER, S. et M.L. BOTHWELL (1986). Photosysthetics of lotic periphyton. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 43: 1960-1969.

JONES, R.C. et K.B. MAYER (1983). Seasonal in the toxonomic composition of epiphytic algal communities in Lake Wingra Wisconsin, U.S.A. *In*: Periphyton freshwater ecosystems. Wetzel R.G. et W. Junk (Eds.), chap.2, pp.11-16.

JORGENSEN, B.B., N.P. REVSBECH, T.H. BLACKBURN et Y. COHEN (1979). Diurnal cycle of oxygen and sulfide microgradient and microbial photosynthesis in a cyano-bacterial mat sediment. Appl. Environ. Microbiol., 35: 46-58.

KALFF, J. et R. KNOECHEL (1978). Phytoplankton and their dynamics in oligotrophic and eutrophic lakes. Ann. Rev. Ecol. Syst., 9: 475-495.

KAUTSKY, H., U. KAUTSKY et S. NELLBRING (1988). Distribution of flora and fauna in an area receiving pulp mill effluents in the Baltic sea. Ophelia., 28: 139-155.

KEENEY, D.R. (1973). The nitrogen cycle in sediment-water systems. J. Environ. Qual., 2: 475-495.

KELLY, M.G., G.M. HORNBERGER et B.J. CROSSLEY (1974). Continuous automated measurement of rates of photosynthesis and respiration in an undisturbed river community. Limnol. Oceanogr., 19: 305-312.

KESSLER, E. (1982). Chemotoxonomy in the chlorococcales. *In*: Progr. Phycol. Res., Round et Chapman (Eds.), Vol 1, Elsevier Biomedical Press BV., p. 111-135.

KIRCHMAN, D., F. KNEES et R. HODSON (1985). Leucine incorporation and its potential as a measure of protein synthesis by bacteria in natural aquatic systems. Appl. Environ. Microbiol., 49: 599-607.

KLASVIK, B. (1974). Computerized analysis of stream algae. Växtekol. stud., 5: 61 p.

KNOECHEL, R. et J. KALFF (1976). The applicability of grain density autoradiography to the quantitative determination of algal species production: a critique. Limnol. Oceanogr., 21: 583-590.

KNOECHEL, R. et J. KALFF (1979). The advantages and disadvantages of grain density and track autoradiography. Limnol., Oceanogr., 26: 1170-1171.

KOLKWITZ, R. et M. MARSSON (1967). Ecology of plant saprobia. *In*: Biology of Water Pollution. Washington, D.C., p. 47-52.

KOMOR, E., B.H. CHO et M. KRAUSS (1988). The occurrence of the glucose-inducible transport system for glucose, proline and arginine in different species of *Chlorella*. Bot. Acta., 101: 321-326.

KORNBERG, H.L. et S.R. ELSDEN (1961). The metabolism of 2-carbon compounds by microorganisms. *In*: Advances in Enzymology. F.F. Nord (Ed.), pp. 401-470.

KORNBERG, H.L. (1973). The Leuwenhoek lecture, 1972. Carbonate transport by microorganisms. Proc. R. Soc. Lond. B., 183: 105-123.

KORTE, V.L. et D.W. BLINN (1983). Diatom colonization on artificial substrata in pool and riffle zones studied by light and scanning electron microscopy. J. Phycol., 19: 332-341.

KREWER, J.A. et H.W. HOLM (1982). The phosphorus chlorophyll-*a* relationship in periphytic communities in a controlled ecosystem. Hydrobiologia, 94: 173-176.

KUIPER, J. et A.O. HANSTVEIT (1984). Fate and effects of 4-chlorophenol and 2,4dichlorophenol in marine plankton communities in experimental enclosures. Ecotoxicol. Environ. Safety, 8: 15-33.

KUISVASNIEMI, K., U. ELORANTA et HALTUNEN-KEYRILAINEN (1986). Ageing of bleached Kraft mill effluent studied by degradation of chlorinated phenolic compounds and *Selenastrum* algal assays. Environ. Pollut., 41: 247-162.

KUIVASNIEMI, K., V. ELORANTA et J. KNUUTINEN (1985). Acute toxicity of some chlorinated phenolic compounds to *Selenastrum capricornutum* and phytoplankton. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 14: 43-49.

LAFONT, M., M., COST, J.G. WASSON et B. FAESSEL (1988). Comparaison de quatre indices biologiques pour apprécier l'impact de la pollution dans des cours d'eau français. Nat. Can., 115: 77-87.

LAMBERTI, G.A. et J.W. MOORE (1984). Aquatic insects as primary consumers. *In*: The Ecology of Aquatic Insects. Resh et Rosenberg (Eds), Praeger N.Y., chap. 7, pp. 164-195.

LAMBERTI, G.A. et V.H. RESH (1985). Comparability of introduced tiles and natural substrates for sampling lotic bacteria, algae and macroinvertebrates. Freshwater Biol., 15: 21-30.

LAMBERTI, G.A., L.R. ASHKENAS, S.V. GREGORY et A.D. STEINMAN (1987). Effects of three herbivores on periphyton communities in laboratory streams. J.N. Am. Benthol. Soc., 6: 92-104.

LANCELOT, C. (1984). Metabolic changes in *Phaeocystis poucheti* (Hariot) Largerheim during the spring bloom in Belgian coastal waters. Estuar. Coast. Shelf Sci., 18: 593-600.

LANCELOT, M. et S. MATHOT (1985). Biochemical fractionation of primary production by phytoplankton in Belgian coastal waters during short and long term incubations with ¹⁴C bicarbonate. I. Mixed diatom population. Mar. Biol., 86: 219-226.

LANGE-BERTALOT, H. (1979). Pollution tolerance of diatoms as a criterion for water quality estimation. Nova Hedwigia. Beiheft, 64: 285-304.

LAPERRIERE, J.D., J.R. JONES et B.H. TRACY (1994). Periphyton and phytoplankton of Selby and Narvak Lakes, Gates of the Arctic National Preserve. Alaska. Lake Reservoir Manage., 9: 90-110.

LAVALLÉE, H.C. (1991). Caractérisation des effluents de l'usine Donahue, Clermont. Campagne réalisée du 29 au 31 mai 1990 dans le cadre du Plan d'Action Saint-Laurent (PASL) et du Programme de Réduction des Rejets Industriels (PPRI). 40 p.

LEACH, J.M., J.C. MUELLER et C.C. WALDEN (1978). Biodegradability of toxic compounds in pulp mill effluent. Pulp Paper Trans. Tech. Sect., 3: TR126-TR130.

LEACH, J.M. et A.N. THAKORE (1975). Isolation and identification of constituents toxic to juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in caustic extraction effluents from Kraft pulp mill bleach plants. J. Fish. Res. Bd. Can., 32: 1249-1257.

LEGENDRE, L. et W.D. WATT (1971-1972). On rapid technic for plankton enumeration. Ann. Inst. Oceanogr., Paris X LVIII, 173-177.

LEHTINEN, K.J., M. NOTINI, J. MATTSSON et L. LANDNER (1988). Disappearance of Bladder-Wrack (*Fuccus vesicolosus*) in the Baltic Sea: Relation to pulp-mill chlorate. Ambio, 17: 387-393.

LEUNG, P.K. et N.J. SELL (1982). Effect of the paper industry on water quality of the lower Fox river. Water Resour. Bull., 18: 495-502. LEWIN, J. et J.A. HELLEBUST (1975). Heterotrophic nutrition of the marine pennate diatom *Navicula pavillardi* Hustedt. Can. J. Microbiol., 21: 1335-1342.

LEWIN, J. et J.A. HELLBUST (1976). Heterotrophic nutrition of the marine pennate diatom *Nitzschia angularis var. affinis.* Mar. Biol., 36: 313-320.

LEWIN, J. et J.A. HELLEBUST (1978). Utilization of glutamate and glucose for heterotrophic growth by the marine pennate diatom *Nitzschia Laevis*. Mar. Biol., 47: 1-7.

LI, W.K.W. (1980). Cellular accumulation and distribution of cadmium in *Isochrysis* galbana during growth inhibition and recovery. J. Plankton. Res., 2: 283-294.

LIU, D., K. THOMSON et K.L.E. KAISER (1982). Quantitative structure-toxicity relationship of halogenated phenols on bacteria. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 29: 130-136.

LOWE, R.L. (1974). Environmental requirements and pollution tolerance of freshwater diatoms. Environmental Monitoring Series EPA-67014-74-005, U.S. Environmental protection agency, Cincinnati, Ohio, U.S.A.

LOWE, R.L., S.W. GOLLADAY et J.R. WEBSTER (1986). Periphyton response to nutrient manipulation in streams draining clearcut and forested woodlands. J. N. Am. Benthol. Soc., 5: 221-229.

LYFORD, J.H. et S.V. GREGORY (1975). The dynamics and structure of periphyton communities in three Cascade Mountain streams. Verh. Internat. Verein. Limnol., 19: 1610-1616.

MAKI, A.W. et H.E. JOHNSON (1976). Evaluation of a toxicant on the metabolism of model stream communities. J. Fish. Res. Bd. Can., 33: 2740-2746.

MARCUS, M.O. (1980). Periphyton community response to chronic nutrient enrichment by a reservoir discharge. Ecology, 61: 387-399.

MARKER, A.F. (1976). The benthic algae of some streams in southern England. II. The primary production of the epilithon in a small chalkstream. J. Ecol., 64: 359-373.

MARTIN, T.A., J.M. GRAHAM, L.E. GRAHAM et J.A. KRANZFELDER (1983). Factors regulating the spatial and temporal distribution of *Cladophora* and *Ulothrix* in the Laurentian Great Lakes. *In*: Periphyton of Freshwater Ecosystems.R.G. Wetzel et (Eds.), The Hague, The Netherlands. p. 135-145.

MARTINEZ, F., M.D. C. AVENDANO, E. MARCO et M.I. ORUS (1987). Algal population and auxotrophic adaptation in a sugar refinery wastewater environment. J. Gen. Appl. Microbiol., 33: 331-341.

MARTINEZ, F. et I.M. ORUS (1991). Interactions between glucose and inorganic carbon metabolism in *Chlorella vulgaris* strain 101. Plant Physiol., 95: 1150-1155.

McAULIFFE, J.R. (1984). Competition for spore, disturbance, and the structure of a benthic stream community. Ecology, 65: 894-908.

McCONNELL, W.J. et SLIGLER (1959). Chlorophyll and productivity in a mountain river. Limnol. Oceanogr., 4: 335-351. McCUBBIN, N. (1984). Techniques de base de l'industrie de pâtes et papiers, et ses pratiques de protection environnementale. Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, SPE 6-EP-83-IF, 223 p.

McINTIRE, C.D. (1966). Some effects of current velocity on periphyton communities in laboratory streams. Hydrobiologia, 27: 1940-1952.

McINTIRE, C.D. (1968). Physiological-ecological studies of benthic algae in laboratory streams. *In*: Benthic Algae in Streams. Chap. 40, pp. 1940-1952.

McINTIRE, C.D. (1973). Periphyton dynamics in laboratory streams: a simulation model and its implication. Ecol. Monogr., 43: 399-420.

McINTIRE, C.D. (1975).Periphyton assemblages in laboratory streams. *In*: River Ecology, B.A. Whitton (Ed), Univ. Calif. Press, Los Angeles, p. 403-430.

McINTIRE, C.D., R.L. GARRISON, H.K. PHINNEY et C.E. WARREN (1964).Primary production in laboratory streams. Limnol. Oceanogr., 9: 92-102.

McINTIRE, C.D. et H.K. PHINNEY (1965). Laboratory studies of periphyton production and community metabolism in lotic environmental. Ecol. Monogr., 35: 237-258.

McKINLEY, K.R. (1977). Light-mediated uptake of ³H-glucose in a small hard-water lake. Ecology, 58: 1356-1365.

McKINLEY, K.R. et R.G. WETZEL (1977). Tritium oxide uptake by algae: an independent measure of phytoplankton photosynthesis. Limnol. Oceanogr., 22: 377-380.

MEF (1992). L'environnement au Québec. Document technique. Ministère de l'Environnement et de la Faune. Québec. 429 p.

MEF (1995a). Qualité des eaux du bassin de la rivière Matapédia, 1979 à 1993. Ministère de l'Environnement et de la Faune. Québec. EN950084. 43 p.

MEF (1995b). Qualité des eaux du Saguenay-Lac-Saint-Jean, 1979 à 1992. Ministère de l'Environnement et de la Faune. Québec. EN950010. 57 p.

MEF (1996). Qualité des eaux du bassin de la rivière des Outaouais, 1979 à 1994. Ministère de l'Environnement et de la Faune. Québec. EN960174. 87 p.

MEIER, P.G., D. O'CONNOR et D. DILKS (1983). Artificial substrata for reducing periphytic variability of replicated samples. *In*: Periphyton of Freshwater Ecosystems. R.G. Wetzel et W. Junk (Eds.), The Hague, The Netherlands, p. 283-286.

MOLL, R. (1984). Heterotrophy by phytoplankton and bacteria in Lake Michigan. Verh. Internat. Verein. Limnol., 22: 431-434.

MOORE, J.W. (1974). Benthic algae of southern Baffin Island. III. Epilithic and epiphytic communities. J. Phycol., 10: 456-462.

MOORE, J.E. et R.J. LOWE (1977). Effect of a pulp and paper mill effluent on the productivity of periphyton and phytoplankton. J. Fish. Res. Bd. Can., 34: 856-862.

MORRIS, I. (1981). Photosynthesis products, physiological state, and phytoplankton growth. Can. Bull. Fish. Aquat. Sci. 210: 83-102.

MOSS, B. (1976). The effects of fertilization and fish on community structure and biomass of aquatic macrophytes and epiphytic algal populations: an ecosystem experiment. J. Ecol., 64: 313-342.

MULLER-HAECKEL, A. (1973). Experiments zum Bervegungsverhalten von einzelligen Fliesswasseralgen. Hydrobiologia, 41: 221-246.

MUNRO, A.L.S. et T.D. BROCK (1968). Distinction between bacterial and algal utilization of soluble substances in the sea. J. Gen. Microbiol., 51: 35-42.

MUNTEANU, N. et E.J. MALY (1981). The effect of current on the distribution of diatoms settling on submerged glass slides. Hydrobiologia, 78: 273-282.

NAIMAN, R.J., (1976). Primary production, standing stock and export of organic matter in a Mohave Desert thermal stream. Limnol. Oceanogr., 21: 60-73.

NAIMAN, R.J., (1983). A geomorphic approach for examining the role of periphyton in large watersheds. *In*: Periphyton of freshwater ecosystems. Chapitre 24. R.G. Wetzel et W. Junk (Eds.), The Hague. pp. 191-198.

NEILSON, A.H., A.S. ALLARD, P.A. HYNNING, M. REMBERGER et L. LANDNER (1983). Bacterial methylation of chlorinated phenols and guaiacols formation of veratroles from guaiacols and high-molecular-weight chlorinated lignin. Appl. Environ. Microbiol., 45: 774-783.

NEILSON, A.H. et R.A. LEWIN (1974). The uptake and utilization organic carbon by algae: on assay in comparative biochemistry. Phycology, 13: 227-264.

NELSON, D.J. et D.C. SCOTT (1962). Role of detritus in the productivity of a rocks outcrop community in a piedmont stream. Limnol. Oceanogr., 7: 396-413.

NEWELL, S.Y., B.F. SHERR, E.B. SHERR et R.D.FALLON (1983). Bacterial response to presence of eukaryotic inhibitors from a coastal marine environment. Environ. Res., 10: 147-157.

ODUM, E.P. (1969). The strategy of ecosystem development. Science, 164: 262-278.

ODUM, E.P. (1975). Diversity as a function of energy flow.*In*: Unifying Concepts in Ecology. W.M. Vandobben et R.H. Lowe-McConnell (Eds.). The Hague, The Netherlands. p. 11-14.

ODUM, E.P., J.T. FLINN et E.H. FRANZ (1979). Perturbation theory and the subsidy-stress gradient. Bio-Science. 29: 349-352.

OEMKE, M.P. et T.M. BURTON (1986). Diatom colonization dynamics in a lotic system. Hydrobiologia, 139: 153-166. OHKI, K. et T. KATOH (1975). Photoorganotrophic growth of a blue-green alga, *Anabaena variabilis*. Plant. Cell. Physiol., 16: 53-64.

PAERL, H.W. et E.A. STULL (1979). In defense of grain density autoradiography. Limnol., Oceanogr., 24: 1166-1169.

PALMER, C.M. (1977). Algae and Water Pollution. U.S. EPA, Cincinnati., Ohio., 124 p.

PALMER, E.G. et R.K. TOGASAKI (1971). Acetate metabolism by an obligate phototrophic strain of *Pandorina morum*. J. Protozool., 18: 640-644.

PARKER, R.R. et J. SIBERT (1973). Effect of pulp mill effluent on dissolved oxygen in a stratified estuary. I. Empirical observations. Water Res., 7: 503-514.

PATRICK, P., T. BOTT et R. LARSON (1975). The role of trace elements in management of nuisance growths. Environmental Protection Agency, Corvallis, EPA-660/2-75-008, 250 p.

PATRICK, R., M. HOHN et J. WALLACE (1954). A new method for determining the pattern of the diatom flora. Not. Nat., 259: 1-12.

PATRICK, R. (1948). Factors affecting the distribution of diatoms. Bot. Rev., 14: 473-524.

PATRICK, R. (1949). A proposed biological measure of stream conditions, based on a survey of the Conestoga Basin, Lancaster Country, Pennsylvania. Proc. Acad. Nat. Sci. Phil., 101: 277-341.

PATRICK, R. (1967). The effect of invasion rate, species pool, and size for area on the structure of the diatom community. Proc. Nat. Acad. Sci., 58: 1335-1342.

PATRICK, R. (1971). The effects of increasing light and temperature on the structure of diatom communities. Limnol. Oceanogr., 16: 405-421.

PATRICK, P. (1973). Use of algae, especially diatoms, in the assessment of water quality. *In*: Biological methods for the assessment of water quality. J. Cairns et K.L. Dickson (Eds), ASTM, Philadelphia, USA. p. 76-95.

PATRICK, R. (1978). Effects of trace metals in the aquatic ecosystem. Am. Sci., 66: 185-191.

PATRICK, R. (1988). Importance of diversity in the functioning and structures of riverine communities. Limnol. Oceanogr., 33: 1304-1307.

PATRICK, R. et C.W. REIMER (1966). The diatoms of the United States exclusive of Alaska and Hawaii. Vol. 1, Monograph 13, Academy of Natural Sciences of Philadelphia, USA.

PATRICK, R. et D. STRAWBRIDGE (1963). Variation in the structure of natural diatom communities. Am. Nat., 97: 51-57.

PAUL, R.W., D.L. KUHN, J.L. PLAFKIN, J. CAIRNS et J.D. CROXDALE (1977). Evaluation of natural and artificial substrate colonization by scanning electron microscopy. Trans. Amer. Micr. Soc., 96: 506-519. PEARCES, G. et N.G. CARR (1969). The incorporation and metabolism of glucose by *Anabaena variabilis*. J. Gen. Microbiol., 54: 451-462.

PECK, V. et R. DALEY (1994). Toward a "greener" pulp and paper industry: The search for mill effluent contaminants and pollution prevention tTechnology. Environ. Sci. Technol., 28: 524-527.

PELROY, R.A., R. RIPPKA et R.Y. STANIER (1972). Metabolism of glucose by unicellular blue-green algae. Arch. Mikrobiol., 87: 303-322.

PERRIN, C.J. et M.L. BOTHWELL (1992). Chlorate discharges from pulp mills: An examination of effects on river algal communities. Water Pollut. Res. J., 27: 473-485.

PERRIN, C.J., M.L. BOTHWELL et P.A. SLANEY (1987). Experimental enrichment of a coastal stream in British Columbia: effects of organic and inorganic additions on autotrophic periphyton production. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 44: 1247-1256.

PETERS, J.C., R.C. BALL et N.R. KEVERN (1968). An evaluation of artificial substrates for measuring periphyton production. Technical Report No. 1, Institute for Water Research, Michigan State University, 66 p.

PETERSON, B.J., J.E. HOBBIE, T.L. CORLISS et K. KRIET (1983). A continuous flow periphyton bioassay: tests of nutrient limitation in a tundra stream. Limnol. Oceanogr., 28: 583-591.

PETERSON, B.J., J.E. HOBBIE et T.L. CORLISS. (1986). Carbon flow in a tundra stream ecosystem. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 43: 1259-1270.

PIELOU, E.C. (1977). Mathematical Ecology. J. Wiley and Sons. New-York. 303 p.

PONTASCH, K.W. (1995). The use of stream microcosms in multispecies testing. *In*: Ecological testing.Cairns, J.Jr. et Niederlehner, B.R. (Eds). Lewis Publishers. London. p. 169-191.

PONTASCH, K.W. et M.A., BRUSVEN (1987). Periphyton response to a gasoline spill in Wolf Lodge Creek, Idaho. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 44: 1669-1693

POWER, M.E. (1984). Habitat quality and the distribution of algae-grazing catfish in a Panamanian stream. J. Animal Ecol., 53: 357-374.

POWER, M.E. et W.J.S. MATTHEWS (1983). Algae grazing minnows (*Compostoma anomalum*) piscivorous bass (*Micropterus* spp.) and the distribution of attached algae in a small prairies margin stream. Oecologia, 60: 228-332.

POWER, M.E., W.J. MATTHEWS et A.J. STEWART (1985). Grazing minnows, piscivorous bass, and stream algae. Dynamics of strong interaction. Ecology, 66: 1448-1456.

PRADET, A. (1967). Etudes des adénosines -5'- mono, di- et tri-phosphates dans les tissus végétaux. I. Dosage enzymatique. Physiol. Veg., 5: 209-221.

PRATT J.R. et N.J. BOWERS (1992). Variability of community metrics: detecting changes in structure and function. Environ. Toxicol.Chem. 11: 451-457.

PRINGLE, C.M. (1987). Effects of water and substratum nutrient supplies on lotic periphyton growth: an integrated bioassay. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 44: 619-629.

PRINGLE, C.M. et J.A. BOWERS (1984). An in situ substratum fertilization technique: diatom colonization on nutrient-enriched, sand substrata. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 41: 1247-1251.

RACHIQ, S., C. AMBLARD et G. BOURDIER (1991). Algal heterotrophy: effects of gentamycin and cycloheximide on bacterial and algal heterotrophic and photosynthetic activities. Rev. Sci. Eau, 4: 343-361.

RAINVILLE, R.P., B.J. COPELAND et W.T. McKEAN (1975). Toxicity of Kraft mill wastes to an estuarine phytoplankton. J. Water Pollut. Cont. Fed., 47: 487-503.

RAVEN, S.A. (1980). Nutrient transport in microalgae. *In*: Advances in Microbial Physiology. Vol. 21, H. Rose et J.G. Morris (Eds), Academic Press, New York, pp. 47-226.

REDFIELD, A.C. (1958). The biological control of chemical factors in the environment. Am. Sci., 46: 205-221.

REITER, M.A. et R.E. CARLSON (1986). Current velocity in streams and the composition of benthic algal mats. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 43: 1156-1162.

RENBERG, L., O. SVANBERG, B.E. BENGTSSON et G. SUNDSTRÖM (1980). Chlorinated guaiacols and catechols bioaccumulation potential in bleaks (*Alburnus alburnus*, *Pisces*) and reproductive and toxic effects on the harpactiocoid *Nitrocra spinifes* (Crustacea). Chemosphere, 9: 143-150.

RHEE, G. (1978) Effects of N:P atomic ratios and nitrate limitation on algal growth, cell composition and nitrate uptake. Limnol. Oceanogr., 23: 10-25.

RICHARDSON, K.A. et G.F. FOGG (1982). The role of dissolved organic material in the nutrition and survival of marine dinoflogellates. Phycologia, 21: 17-26.

REIMAN, B., M. SONDERGAARD, H.S. SCHIERAP, G. BOSSELMANN, G. CHRIS-TENSEN, J. HANSEN et B. NIELSEN (1982). Carbon metabolism during a spring diatom bloom in the eutrophic Lake Mosso. Int. Rev. Ges. Hydrobiol., 67: 145-185.

RIVKIN, R.B. et M. PUTT (1987). Photosynthesis and cell division by Antarctic microalgae: comparison of benthic, planktonic and ice algae. J. Phycol., 23: 223-229.

RIVKIN, R.B., E. SWIFT, M.A. VOYTEK et W.M. BIGGLEY (1984). Growth and carbon uptake by natural populations of *Perocystis noctiluca* and *Pyrocystis fusiformis*. Deep-Sea Res., 31: 353-367.

RIVKIN, R.P. (1985). Carbon-14 labelling patterns of individual marine phytoplankton from natural population: a species approach. Mar. Biol., 89: 135-142.

ROBINSON, G.G. (1983). Methodology: the key to understanding periphyton. *In*: Periphyton of freshwater ecosystems. R.G. Wetzel et W. Junk (Eds.), The Hague, The Netherlands, p. 245-251.

RODGERS, J.H. JR. et R.S. HARVEY (1976). The effect of current on periphitic productivity as determined using carbon-14. Water Resour. Bull., 12: 1109-1118.

RODGERS, J.M., K.L. DICKSON et J. CAIRNS (1979). A review and analysis of some methods used to measure functional aspects of periphyton. *In*: Methods and Measurements of Periphyton Communities: a Review. R.L. Weitzel (Ed.), ASTM STP 690, p. 142-167.

ROEMER, S.C., K.D. HOAGLAND et J.R. ROSOWSKI (1984). Development of a freshwater periphyton community as influenced by diatom mucilages. Can. J. Bot., 62: 1799-1813.

ROGERS, J., J. CLARK K., DICKSON et J. CAIRNS (1980). Nontaxonomic analyses of structure and function of aufwuchs communities in lotic microcosms. *In*: Microcosms in ecological research. J. Cairns (Ed.), Technical Information Center, U.S. Department of Energy, Washington, USA, p. 625-644.

ROOS, P.J. (1983). Dynamics of periphytic communities. *In*: Periphyton of Freshwater Ecosystems. R.G. Wetzel et W. Junk (Eds.), The Hague, The Netherlands, p. 5-10

ROSEMARIN, A. et S. GELIN (1978). Epilithic algal presence and pigment composition on naturally occurring and artificial substrates in lakes Trummen and Fiolen, Sweden. Verh. Internat. Verein. Limnol., 20: 808-813.

ROSEMARIN, A., K.K. LENTINEN, M. NOTINI, B. AXELSSON et J. MATTSSON (1985). Effects of pulp mill chlorate on algae. Swedish Environmental Research Group., Karlsbrona MFG Publication. pp. 1-37.

ROSS, P.J., A.F. POST et J.M. REVIER (1981). Dynamics and architecture of reed periphyton. Verh. Internat. Verein. Limnol., 21: 948-953.

ROUND, F.E. (1991). Diatoms in river water-monitoring studies. J. Appl. Phycol., 3: 129-145.

ROWE, E.L., R.J. ZIOBRO, C.J. WANG et C.W. DENCE (1982). The use of an alga *Chlorella pyrenoidosa* and a duchweed *Lemna perpusilla* as test organisms for toxicity bioassays of spent bleaching liquors and their components. Environ. Pollut. Ser. A, 27: 289-296.

RUSSEL, P.P., A.J. HORNE et J.F. THOMAS (1981). Application of laboratory scale model streams toward assessing effluent impacts in freshwater lotic environments. *In*: Ecological Assessment of Effluent Impacts on Communities of Indigenous Aquatic Organisms. J.M. Bates et C.I. Weber (Eds.), ASTM, Philadelphia. PA, p. 32-48.

SAKS, N.M. (1983) Primary production and heterotrophy of pennate and centric salt marsh diatom. Mar. Biol., 76: 241-246.

SAND-JENSEN, K. (1983). Physical and chemical parameters regulating growth of periphytic communities. *In*: Periphyton of freshwater ecosystems. R.G. Wetzel et W. Junk (Eds.), The Hague, The Netherlands, p. 63-71.

SAUNDERS, G.W. (1972). Potential heterotophy in a natural population of *Oscillatoria* agardhii var. isothix, Shuza. Limnol. Oceanogr., 17: 70-711

SCHELSKE, C.L. et E.F. STOERMER (1971). Eutrophication, silica depletion and prediction changes in algal quality in Lake Michigan. Science, 173: 423-424.

SCHINDLER, D.W., U.E. FROST et R.V. SCHMIDT (1973). Production of epilithyphyton in two lakes of the Experimental Lakes Area, Northwestern Ontario. J. Fish. Res. Board Can., 30: 1511-1524.

SEKI, H., T. TERODA et S. ICHIMURA (1980). Steady-state oscillation of uptake kinetics by microorganism in mesotrophic and eutrophic water masses. Arch. Hydrobiol., 88: 219-331.

SEPERS, A.B.J. (1977). The utilization of dissolved organic compounds in aquatic environments. Hydrobiologia, 52: 39-54.

SHANNON, C.E. et W. WEAVER (1949). The Mathematical Theory of Communication. Urbana Univ. Press. Illinois. 117 p.

SHEATH, R.G. et J.M. BURKHOLDER (1985). Characteristics of softwater streams in Rhode Island. II. Composition and seasonal dynamics of macroalgal communities. Hydrobiologia, 128: 109-118.

SHELDON, R.W. et W.H. SUTCLIFFE (1969). Retention of marine particle by screen filters. Limnol. Oceanogr., 14: 441-452

SHELDON, R.W. (1972). Size separation of marine seston by membrane and glass filters. Limnol. Oceanogr., 17: 494-501

SHERRER, B. (1984). Biostatistique. G. Morin Éd. Chicoutimi. 850 p.

SHORTREED, K.S. et J.G. STOCKNER (1983). Periphyton biomass and species composition in a coastal rain forest stream in British Columbia: effects of environmental changes caused by logging. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 40: 1887-1895.

SICKO-GOAD, L., E.F. STOERMER et B.G. LADEWSKI (1977). A morphometric method for correcting phytoplankton all volume estimates. Protoplasma, 93: 147-163.

SINCLAIR, W.F. (1990). La lutte contre la pollution découlant de la fabrication de pâtes et papiers au Canada: perspective fédérale. Environnement Canada, 392 p.

SLADECEK, V. (1973). System of water quality from a biological point of view. Arch. Hydrobiol., 7: 1-218.

SLADECEK, V. et A. SLADECKOVA (1964). Determination of the periphyton production by means of the glass slide method. Hydrobiologia, 23: 125-158.

SLADECKOVA, A. (1962). Limnological investigation methods for the periphyton ("Aufwuchs") community. Bot. Rev., 28: 286-350.

SMITH, C.C. (1976). When and how much to reproduce: the trade-off between power and efficiency. Am. Zool., 16: 763-774.

SOSZKA, G.J. (1975). The invertebrates on submerged macrophytes in three Mosurion lake. Ekol. Pol., 23: 377-391.

STANIER, R.Y. (1973). Autotrophy and heterotrophy in unicellular blue-green algae. *In*: The Biology of Blue-Green Algae. N.G. Carr et B.A. Whitton (Eds), Univ. California Press, Berkeley.

STANLEY, D.W. (1976). Productivity of epipelic algae in tundra ponds and a lake near Barrow, Alaska. Ecology, 57: 1015-1024.

STEEMANN-NIELSEN, E. (1952). The use of radio-active carbon (14 C) for measuring organic production in the sea. J. Cons. Int. Explor. Mer., 18: 117-140.

STEEMANN-NIELSEN, E. (1977). The carbon-14 technique for measuring organic production by plankton algae. A report on the present knowledge. Folia Limnol. Scand., 17: 45 p.

STEINMAN, A.D. et C.D. McINTIRE (1986). Effects of current velocity and light energy on the structure of periphyton assemblages in laboratory streams. J. Phycol., 22: 352-361.

STEINMAN, A.D. et C.D. McINTIRE (1987). Effects of irradiance on the community structure and biomass of algal assemblages in laboratory streams. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 44: 1640-1648.

STEINMAN, A.D., C.D. McINTIRE, S.V. GREGORY, G.A. LAMBERT et L.R. ASHKENAS (1987). Effects of herbivore type and density on taxonomic structure and physiognomy of algal assemblages in laboratory streams. J.N. Am. Benthol. Soc., 6: 175-188.

STEVENSON, R.J. (1984). How currents on different sides of substrates in streams affect mechanisms of benthic algal accumulation. Int. Rev. Ges. Hydrobiol., 69: 241-262.

STOCKNER, J.G. et D.D. CLIFF (1976). Effects of pupl mill effluent on phytoplankton production in coastal marine waters of British Columbia. J. Fish. Res. Board. Can., 33: 2433-2442.

STOCKNER, J.G. et F.A.J. ARMSTRONG (1971). Periphyton of the experimental lakes area, North-Western Ontario. J. Fish. Res. Board Can., 28: 215-229.

STOCKNER, J.G. et A.C. COSTELLA (1978). Benthic algae in the Thompson River, British Columbia: their response to pulpmill and sewage effluent. Fish. Mar. Ser. Tech. Rep., 758, 19 p.

STOCKNER, J.G. et K.R. SHORTREED (1978). Enhancement of autotrophic production by nutrient addition in a coastal rainforest stream on Vancouver Island. J. Fish. Res. Board Can., 35: 28-34.

STOCKNER, J.G. et A.C. COSTELLA (1976). Marine phytoplankton growth in high concentrations of pulp mill effluent. J. Fish. Res. Board Can., 33: 2758-2765.

STORCH, T.A. et G.W. SAUNDERS (1978). Phytoplankton extracellular release and its relation to the seasonal cycle of dissolved organic carbon in a eutrophic lake. Limnol. Oceanogr., 23: 112-119.

STREHLER, B.L. et J.R. TÖTTER (1952). Firefly luminescence in the study of energy transfer mechanisms. I. Substrate and enzyme determination. Arch. Biochem. Biophys., 40: 28-41.

SULLIVAN, M.J. (1986). Mathematical expression of diatom results: are these "pollution indices" valid and useful? *In*: 8th Diatom Symposium Proceedings (1984) Paris, p. 772-776.

TANNER, W. et N. GAUER (1989). Uptake of sugars and amino acids by *Chlorella*. Methods in Enzymology, 174: 390-402.

TILZER, M.N., H. PAERL et C.R. GOLDMAN (1977). Sustained viability of aphotic phytopolankton in lake Tahoe (California-Nevada). Limnol. Oceanogr., 22: 84-91.

THOMPSON, P.A. et P. COUTURE (1989). Acclimatation and recovery of *Selenastrum capricornutum* exposed to Cd: carbon and ATP metabolism. Can. J. Fish. Aquat. Sci.

TRAAEN, T.S. (1975). Biological effects of primary, secondary and tertiary treatment in lotic analogue recipients. Verh. Int. Verein. Limnol., 19: 2064-2069.

TRAAEN, T.S. (1978). Effects of effluents from a variety of sewage treatment methods on primary productivity, respiration and algal community in artificial stream channels. Verh. Int. Verein. Limnol., 20: 1767-1771.

TRAAEN, T.S. et E.A. LINDSTROM (1983). Influence of current velocity on periphyton distribution. *In*: Periphyton of Freshwater Ecosystems. R.G. Wetzel et W. Junk (Eds.), chap. 13, pp. 97-99.

TRISKA, F.J., V.C. KENNEDY, R.J. AVENZINO et B.N. REILLY (1983). Effect of simulated canopy cover on regulation of nitrate uptake and primary production by natural periphyton assemblages. *In*: Dynamics of Lotic Ecosystems. Fontaine et Bartell (Eds.), Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, MI, p. 129-159.

TURNER, M.A., M.B. JACKSON, D.L. FINDLAY, R.W. GRAHAM, F.R. DEBRUYN et E.M. VONDERMEIR (1987). Early responses of periphyton to experimental lake acidification. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 49: 135-149.

UTERMÖHL, M. (1958). Zur vevollkommnung der quantitative phytoplankton. Methodik Mitt. Intern. Verein. Limnol., 9: 1-38.

VINCENT, W.F. (1978). Survival of aphotic phytoplankton in Lake Tahoe throughout prolonged stratification. Verh. Intern. Verein. Limnol., 20: 401-406.

VINCENT, W.F. et C.R. GOLDMAN (1980). Evidence for algal heterotrophy in Lake Tahoe, California-Nevada. Limnol. Oceanogr., 25: 89-99.

VOLLENWEIDER, R.A. (1969). A Manual on Methods for Measuring Primary Production in Aquatic Environments. IBP Handbook No. 12, F.A. Davis Co., Philadelphia, PA, 213 p. WAINMAN, B.C., F.R. PICK, P.B. HAMILTON et D.R.S. LEAN (1993). Lipid production in relation to phytoplankton succession in lakes. Arch. Hydrobiol., 128: 197-207.

WALDEN, C.C. (1976). The toxicity of pulp and paper mill effluents and corresponding measurement procedures. Water Res., 10: 639-664.

WALLEN, D.G. (1990). Photoheterotrophy and dark heterotrophy in ice-covered lake St-Clair. J. Great Lakes Res., 16: 339-345.

WARREN, G.E. et G.E. DAVIS (1971). Laboratory stream research: objectives, possibilities and constraints. A. Rev. Ecol. Syst., 2: 111-144.

WATANABE, T., J. CAPBLANCQ et A. DAUTA (1988). Utilisation des bioessais in situ (substrats artificiels) pour caractériser la qualité des eaux de rivière à l'aide du périphyton. Ann. Limnol., 24: 111-125.

WATSON. S. et J. KALFF (1981). Relationships between nannoplankton and lake trophic status. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38: 960-967.

WEBER, C.I. (1981). Evaluation of the effects of effluents on aquatic life in receiving waters an overview. *In*: Ecological Assessments of Effluents Impacts on Communities of Indigenous Aquatic Organisms. Bates, J.M. et C.I. Weber (Eds.), ASTM STP 730, Philadelphia, PA, p 3-13.
WEBER, C.I. et B.M. McFARLAND (1981). Effects of exposure time, season, substrate type and planktonic populations on the taxonomic composition of algal periphyton on artificial substrates in the Ohio and Little Miami Rivers, Ohio. *In*: Ecological Assessments of Effluents Impacts on Communities of Indigenous Aquatic Organisms. J.M. Bates et C.I. Weber (Eds.), ASTM STP 730, Philadelphia, PA., p. 166-219.

WEITZEL, R.L. (1979). Periphyton measurements and applications. *In*: Methods and Measurements of Periphyton Communities: a Review. R.L. Weitzel (Ed.), American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA., p. 3-33.

WEITZEL, R.L., S.L. SANOCKI et M. HOLECEK (1979). Sample replication of periphyton collected from artificial substrates. *In*: Methods and Measurements of Periphyton Communities: a Review. WEITZEL R.L. (Ed.), ASTM STP 690, Philadelphia, P.A., p. 90-115.

WETZEL, R.G. (1964). A comparative study of the primary productivity of higher aquatic plants, periphyton, and phytoplankton in a large, shallow lake. Int. Rev. Ges. Hydrobiol., 49: 1-61.

WETZEL, R.G. (1967). Hidrologiai Kozlöny, 47: 298-303.

WETZEL, R.G. (1983). Periphyton of Freshwater Ecosystems. Dr W. Junk Publishers, The Hague, The Netherlands, 346 p.

WHITFORD, L.A. (1960). The current effect and growth of freshwater algae. Trans. Am. Microsc. Soc., 79: 302-309.

WILHM, J.L. et T.C. DORRIS (1968). Biological parameters for water quality criteria. Bioscience., 18: 477-481.

WONG, A. et S. PRAHACS (1977). Physico-chemical techniques for treating mill effluents: a state-of-the-art review. Pulp. Pap. Can., 78: 63-67.

WRIGHT, R.T. et J.E. HOBBIE (1965). The uptake of organic solutes in lake water. Limn. and Oceano. 10: 22-28.

WUHRMANN, K. et E. EICHENBERGER (1975). Experiments on the effects of inorganic enrichment of rivers on periphyton primary production. Verh. Int. Verein. Limnol., 19: 2028-2034.

ANNEXE

RELATION ENTRE LES VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN SUBSTRAT ORGANIQUE DANS LE MILIEU ET LES RÉSULTATS D'ASSIMILATION PHOTOHÉTÉROTROPHE Les concentrations en glucose et en acides aminés dans l'eau de la rivière Malbaie n'ont pas été mesurées. Par conséquent, l'effet de dilution du substrat radiomarqué n'a pas été pris en compte. Cependant, la vitesse de prise en charge d'un substrat organique par la cellule peut, théoriquement, être représentée par le graphique suivant (Wright et Hobbie, 1965).



Figure A.1: Représentation graphique théorique de la vitesse de prise en charge d'un substrat organique en fonction de sa concentration dans le milieu. V_{max} = vitesse maximale de prise en charge; K_{s} = concentration de substrat (ex.: glucose) donnant une valeur de $\mho = V_{\text{max}}/2$.

Théoriquement:

$$\mho = \frac{V_{\max} ([S]_n + [A])}{K + [S]_n + [A]}$$

où: \mho = vitesse de prise en charge du substrat organique V_{max} = vitesse maximale de prise en charge du substrat organique, qui est proportionnelle à la biomasse active

- $[S]_n$ = concentration du substrat organique naturel
- [A] = concentration du substrat organique marqué ajouté
- K = constante d'affinité pour le substrat organique
- **Cas i**: La concentration du substrat organique est faible par rapport à la constante d'affinité $(([S]_n + [A]) \leq \leq K).$

Alors:

$$\mho = \frac{V_{\max}}{K} \cdot ([S]_n + [A])$$

i-a: <u>Si</u> la concentration du substrat organique naturel est beaucoup plus élevée que la concentration du substrat organique marqué ajouté ($[S]_n >>>[A]$) <u>et si</u> la concentration du substrat organique naturel varie peu d'une station à l'autre ($[S]_n$ station A = $[S]_n$ station B).

Alors:

les vitesses d'assimilation mesurées reflètent les changements dans le rapport V_{max} / K et s'approchent des valeurs réelles d'assimilation du substrat organique.

i-b: <u>Si</u> la concentration du substrat organique naturel est beaucoup plus élevée que la concentration du substrat organique marqué ajouté ($[S]_n >>>[A]$) <u>et si</u> la concentration du substrat organique naturel varie d'une station à l'autre ($[S]_n$ station A < $[S]_n$ station B).

Alors:

l'activité spécifique du substrat est moins élevée à la station en aval qu'à la station en amont - mais, puisque les vitesses de prise en charge sont proportionnelles à la concentration du substrat organique (partie linéaire de la courbe) alors, la vitesse globale d'assimilation du substrat organique ($[S]_n + [A]$) augmente pour compenser et les vitesses d'assimilation mesurées continuent de refléter les valeurs réelles d'assimilation du substrat organique.

i-c: <u>Si</u> la concentration du substrat organique naturel est beaucoup moins élevée que la concentration du substrat organique marqué ajouté ($[S]_n <<<[A]$) <u>et si</u> la concentration du substrat organique naturel varie d'une station à l'autre ($[S]_n$ station A < $[S]_n$ station B).

Alors:

le raisonnement précédent s'applique.

Cas ii: La concentration du substrat organique est élevée par rapport à la constante d'affinité $(([S]_n + [A]) >>> K).$

Alors:

où: f = fraction du substrat organique marqué assimilé après le temps t

ii-a: <u>Si</u> la concentration du substrat organique naturel varie peu d'une station à l'autre ($[S]_n$ station A = $[S]_n$ station B).

Alors:

l'activité spécifique du substrat ne varie pas d'une station à l'autre; les vitesses d'assimilation mesurées reflètent les changements de la biomasse active et s'approchent des valeurs réelles d'assimilation du substrat organique.

ii-b: <u>Si</u> la concentration du substrat organique naturel varie d'une station à l'autre $([S]_n \text{ station } A < [S]_n \text{ station } B)$

Alors:

l'activité spécifique du substrat est moins élevée à la station en aval qu'à la station en amont - les vitesses d'assimilation mesurées reflètent donc à la fois les changements de la biomasse active et la dilution du substrat organique marqué - par conséquent, à biomasse et activité égales, la vitesse d'assimilation mesurée sera inférieure à la station en aval. Si l'on admet: (1) que les concentrations de glucose dans les eaux de la rivière Malbaie se situent près des concentrations retrouvées en milieu naturel;
(2) que les concentrations du substrat marqué sont à peu près équivalentes aux concentrations du substrat organique non marqué à la station témoin;

> (3) que les concentrations en glucose sont plus élevées à la station en aval suite aux apports par l'effluent de pâtes et papiers;

> (4) qu'un seul substrat marqué (ou mélange d'une même famille de composés) a été utilisé par rapport aux mélanges complexes de substrats organiques disponibles dans le milieu;

alors,

la dernière situation s'applique à nos conditions d'étude (cas ii-b) et, par conséquent, nos résultats représentent une sous-estimation des différences réelles entre les valeurs d'assimilation photohétérotrophe du glucose observées à la station en aval et celles obtenues à la station en amont.