

Université du Québec
Centre Eau Terre Environnement de l'Institut National de la Recherche Scientifique

SUIVI DES CYANOBACTÉRIES EN MILIEU LACUSTRE PAR FLUORIMÉTRIE *IN VIVO*

Par
Annabelle Warren

Mémoire présenté
dans le cadre du programme de maîtrise en sciences de l'eau
pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

Jury d'évaluation

Président du jury et examinateur interne

Jean-Christian Auclair
Centre Eau Terre Environnement de l'INRS

Examineur externe

Anas Ghadouani
University of western Australia

Directrice de recherche

Isabelle Laurion
Centre Eau Terre Environnement de l'INRS

Codirectrice de recherche

Dolors Planas
Université du Québec à Montréal



RÉSUMÉ

Depuis les dernières décennies, les épisodes d'efflorescences de cyanobactéries potentiellement toxiques connaissent une augmentation importante dans les écosystèmes d'eau douce à l'échelle mondiale, menant à l'émergence d'un besoin de suivre rapidement leur développement. Dans les écosystèmes aquatiques d'eau douce, la détection de la fluorescence *in vivo* (FIV) du pigment phycocyanine (PC) a été associée à la présence des cyanobactéries et utilisée comme un indice de suivi. Selon les analyses réalisées en laboratoire avec la souche unicellulaire de *Microcystis*, le fluorimètre YSI utilisé dans cette étude sous-estime fortement la densité des cellules avec la calibration du fabricant (l'erreur relative moyenne: 99 %). Par contre, la FIV de la PC détectée par le YSI est fortement liée ($r^2 = 0.97$, $P < 0.0001$) à la densité des cellules de *Microcystis* quantifiée par microscopie. L'application d'une méthode de calibration *a posteriori* des valeurs détectées permet d'améliorer l'estimation de la densité des cyanobactéries, mais l'erreur relative moyenne demeure élevée (> 21 %), en particulier pour une densité de cellules inférieure à 20 000 cellules ml^{-1} (54 %). La performance du fluorimètre YSI peut être améliorée à l'aide d'une calibration en laboratoire réalisée avec une souche unicellulaire de la cyanobactérie *Microcystis*, mais en présence de formes coloniales, la justesse des estimés et la relation avec la densité « équivalente » est faible ($r^2 = 0.55$, $P = 0.0002$) et l'incertitude associée à l'estimation de la densité cellulaire est importante (> 38 %). Selon les essais réalisés à partir du YSI fraîchement calibré, les limites de détection (LDM) et de quantification (LQM) de la méthode sont plus élevées lorsque les populations de cyanobactéries sont dominées par une forme coloniale. Les résultats suggèrent que les valeurs détectées par le YSI demeurent semi-quantitatives pour les densités entre la LDM et la LQM, soit entre 8 200 et 19 300 cellules ml^{-1} , et que le dépassement du seuil de 20 000 cellules ml^{-1} peut théoriquement être détecté de façon juste car cette valeur est supérieure à la LQM établie pour l'appareil en présence de formes coloniales de *Microcystis*. Le fluorimètre BBE calibré par le fabricant ne permet pas de détecter les cyanobactéries en présence de la souche unicellulaire de *Microcystis* ($r^2 = 0.24$, $P < 0.01$), mais permet de suivre leur biomasse totale. Toutefois, en présence de la souche coloniale de *Microcystis*, le BBE distingue le groupe des cyanobactéries ($r^2 = 0.83$, $P < 0.0001$) mais leur biomasse est sous-estimée. Selon les analyses fluorimétriques réalisées en milieu naturel, avec la calibration du fabricant, le fluorimètre YSI sous-estime fortement la densité des cellules de cyanobactéries (l'erreur relative moyenne > 83 %). Avec l'application de la méthode de calibration *a posteriori* développée en laboratoire pour la souche unicellulaire de *Microcystis*, la justesse des estimés est améliorée pour les valeurs au-dessus de la LQM (l'erreur relative moyenne en 2007: 48 %; en 2008: 30 %), ce qui permet d'utiliser les valeurs estimées pour suivre rapidement le développement des populations de cyanobactéries au lac Saint-Charles. Pendant la période de suivi en 2007, la densité des cellules de

cyanobactéries estimées à partir de la FIV de la PC détectée *in situ* est fortement liée à la densité « équivalente » des cyanobactéries ($r^2 = 0.87$, $P < 0.0001$). La relation obtenue pour la période de suivi en 2008 est moins forte ($r^2 = 0.76$, $P = 0.0005$). Les équations de calibration *a posteriori* développées pour les deux périodes de suivi en 2007 et 2008 au lac Saint-Charles, en utilisant les valeurs quantifiées par microscopie pour chacune des années permettent d'améliorer davantage la justesse de l'estimation pour les valeurs au dessus de la LQM (l'erreur relative moyenne en 2007: 22 %; en 2008: 16 %). Dans les conditions de l'étude menée au lac Saint-Charles, le fluorimètre BBE calibré par le fabricant ne permet pas de détecter la présence de cyanobactéries mais permet de suivre la biomasse totale du phytoplancton. Selon les valeurs de FIV de la PC détectées au lac Saint-Charles avec le YSI et calibrées *a posteriori*, le seuil de 20 000 cellules ml^{-1} est dépassé dans l'épilimnion dès le début du mois de juillet et jusqu'au début du mois d'octobre en 2007. De plus, la présence de fortes densités de cellules cyanobactériennes est détectée dans l'hypolimnion au début de l'automne, ce qui est confirmé par l'analyse microscopique. Les valeurs de FIV détectées avec le YSI en 2008 et calibrées *a posteriori* indiquent que le seuil de 20 000 cellules ml^{-1} est dépassé dans l'épilimnion du lac Saint-Charles pendant deux périodes en juillet-août et septembre-octobre 2008, mais la population de cyanobactéries est surtout composée de picocyanobactéries coloniales non toxiques ne formant pas d'efflorescences (*Aphanocapsa*, *Aphanothece*).



AVANT-PROPOS

J'aimerais remercier chaleureusement ma directrice Isabelle Laurion, professeure-chercheure à l'INRS-ETE, ainsi que ma co-directrice Dolors Planas, professeure-chercheure à l'UQAM, pour leur intérêt et leur participation à mon apprentissage, pour m'avoir orientée de façon efficace et stratégique tout en me laissant libre de développer mon autonomie dans la conception et la réalisation de ce projet de recherche. Je les remercie de leurs précieux conseils et leurs nombreuses recommandations toujours stimulantes. Je remercie également les membres du jury d'évaluation, M. Jean-Christian Auclair et M. Anas Ghadouani, pour leur contribution significative à l'amélioration de ce mémoire.

Je tiens à souligner la contribution importante de l'équipe de M. Christian Bastien, chercheur au Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, dans le développement du desing expérimental présenté au deuxième chapitre de ce mémoire ainsi que pour les nombreuses discussions intéressantes et stimulantes. Je souhaite également remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation des travaux réalisés dans le cadre de cette étude: Sébastien Bourget, Warwick F. Vincent, Marie-Josée Martineau, Laurence Roy-Grégoire, Christiane Dupont, Leira Retamal, Shohei Watanabe, Delphine Rolland, Marc-Antoine Couillard, Roxane Tremblay, Mélanie Deslonchamps et l'équipe de l'Association pour la protection de l'environnement du lac Saint-Charles et des Marais du Nord.

Enfin, ce travail a été rendu possible grâce au support financier de l'Association pour la protection de l'environnement du lac Saint-Charles et des Marais du Nord, de la Ville de Québec ainsi que du Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG).

GLOSSAIRE DES ABRÉVIATIONS

APC : allophycocyanine

C : cytotoxine

Chl-a : chlorophylle-a

Chl-b : chlorophylle-b

Chl-c : chlorophylle-c

CID : carbone inorganique dissous

CO₂ : dioxyde de carbone

D : dermatotoxine

DEL : diodes électroluminescentes

E : endotoxines

Ed : eau douce

Es : estuarien

Fe²⁺ : fer libre

FIV : fluorescence *in vivo*

H : hépatotoxine

HAB : harmful algal bloom

HCO₃⁻ : bicarbonate

LDM : limite de détection de la méthode

LQM : limite de quantification de la méthode

Ma : marin

MDDEP : ministère du Développement durable, Environnement et Parcs

MES : matière en suspension

MODC : matière organique dissoute colorée

N : azote

N₂ : azote atmosphérique

Ne : neurotoxine

NH₄⁺ : ammonium

NO₂⁻ : nitrite

NO₃⁻ : nitrate

NT : azote total

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P : phosphore

PBP : phycobiliprotéine

PBS : phycobilisome

PC : phycocyanine

PE : phycoérythrine

PSI : photosystème I

PSII : photosystème II

PT : phosphore total

S²⁻ : sulfure

Urf : unité relative de fluorescence



TABLE DES MATIÈRES

Résumé.....	2
Avant-Propos.....	4
Glossaire des abréviations.....	5
Table des matières.....	7
Liste des figures.....	9
Liste des tableaux.....	11
Chapitre 1: Synthèse.....	13
1. Problématique générale.....	13
2. Introduction.....	14
2.1 Les cyanobactéries.....	14
Importance écologique des cyanobactéries.....	14
La diversité des cyanobactéries.....	15
Les cyanobactéries qui forment des efflorescences.....	16
Toxicité potentielle des cyanobactéries.....	18
Capacité à réguler la flottaison, formation et devenir des efflorescences de cyanobactéries.....	20
Capacité à fixer l'azote atmosphérique.....	22
Appareil photosynthétique spécialisé.....	22
2.2 Facteurs écologiques influençant le développement des efflorescences de cyanobactéries.....	24
Énergie lumineuse.....	25
Carbone inorganique.....	25
Nutriments.....	26
Turbulence.....	28
Température.....	28
Effets des changements climatiques sur les efflorescences de cyanobactéries.....	29
2.3 Dynamique des communautés lacustres de phytoplancton et de cyanobactéries.....	30
Recrutement printanier des cyanobactéries dans les écosystèmes lacustres.....	30
Patron de succession du phytoplancton et des cyanobactéries dans les écosystèmes lacustres.....	31
2.4 Évaluation du risque associé aux cyanobactéries qui forment des efflorescences.....	32
Seuils décisionnels pour l'évaluation du risque.....	32
Identification des espèces de cyanobactéries, quantification des cellules et de la biomasse totale.....	33
2.5 Suivi des cyanobactéries à partir de la fluorescence <i>in vivo</i> (FIV).....	34
Distinction de la FIV des groupes spectraux de phytoplancton.....	35
Détection de la FIV des groupes spectraux de phytoplancton.....	36
Suivi des épisodes d'efflorescences de cyanobactéries.....	39
3. Objectifs et hypothèses de recherche.....	41
3.1 Objectifs.....	41
3.2 Hypothèses.....	41
4. Méthodes.....	42
5. Plan du mémoire.....	43
Chapitre 2. Évaluation de la performance de détecteurs de fluorescence <i>in vivo</i> pour estimer la densité ou la biomasse de souches unicellulaires et coloniales de cyanobactéries.....	45
Résumé.....	46
Introduction.....	47
Méthodologie.....	49
Culture des souches de cyanobactéries, dilutions et détection de la FIV.....	49
Quantification de la densité et du biovolume.....	51
Quantification de la biomasse totale.....	52
Calcul des limites de détection de la méthode (LDM) et de quantification de la méthode (LQM).....	52



Évaluation de la justesse des valeurs estimées par FIV.....	52
Analyses statistiques	52
Résultats	53
Estimation de la densité des cyanobactéries avec le fluorimètre YSI.....	53
Justesse et linéarité des valeurs de densités cellulaires estimées selon les types de calibration ...	53
Limites de détection et limites de quantification du YSI calibré en laboratoire	54
Estimation de la biomasse des cyanobactéries avec le fluorimètre YSI.....	54
Justesse et linéarité des valeurs de biomasse estimées selon la calibration du fabricant.....	54
Estimation de la biomasse des cyanobactéries avec le fluorimètre BBE	54
Justesse et linéarité des valeurs de biomasse estimées selon la calibration du fabricant.....	54
Discussion	55
Estimation de la densité et de la biomasse des cyanobactéries avec le fluorimètre YSI.....	55
Estimation de la biomasse des cyanobactéries avec le fluorimètre BBE	57
Chapitre 3. Suivi des cyanobactéries en milieu lacustre par fluorimétrie <i>in vivo</i>; étude de cas menée au lac Saint-Charles, Québec.	62
Résumé.....	63
Introduction	64
Méthodologie	67
Site d'étude.....	67
Estimation de la densité ou de la biomasse des cyanobactéries par fluorimétrie <i>in vivo</i>	68
Dépistage des cyanobactéries ayant un potentiel toxique.....	69
Quantification de la densité et du biovolume	70
Quantification de la biomasse totale.....	70
Analyses statistiques	70
Résultats	71
Estimation de la densité des cyanobactéries avec le fluorimètre YSI en milieu naturel.....	71
Justesse et linéarité des valeurs de densités cellulaires estimées selon les types de calibration ...	71
Estimation de la biomasse du phytoplancton avec le fluorimètre YSI en milieu naturel.....	72
Justesse et linéarité des valeurs de biomasse estimées selon la calibration du fabricant.....	72
Estimation de la biomasse des cyanobactéries avec le fluorimètre BBE en milieu naturel	72
Justesse et linéarité des valeurs de biomasse estimées selon la calibration du fabricant.....	72
Suivi de la distribution spatio-temporelle des cyanobactéries au lac Saint-Charles	73
Suivi des cyanobactéries dans la colonne d'eau avec le fluorimètre YSI.....	73
Structure de la communauté phytoplanctonique pendant les périodes de suivi	74
Discussion	75
Estimation de la densité des cyanobactéries avec le fluorimètre YSI en milieu naturel.....	75
Estimation de la biomasse des cyanobactéries avec le fluorimètre BBE en milieu naturel	76
Estimation de la biomasse totale du phytoplancton en milieu naturel.....	78
Suivi de la distribution spatio-temporelle des cyanobactéries au lac Saint-Charles	78
Conclusion	92
Références	93
Annexe.....	110



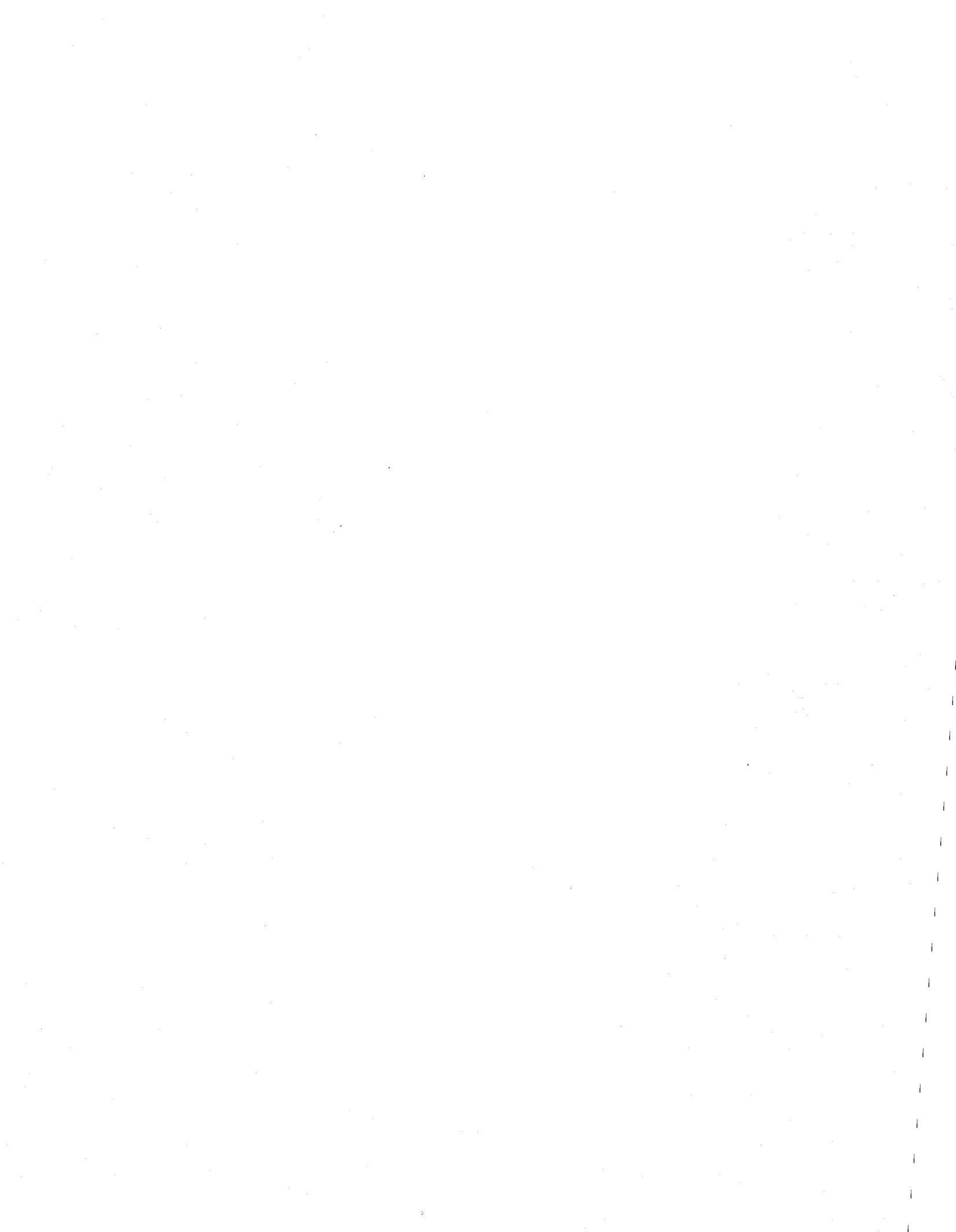
LISTE DES FIGURES

- Figure 2.1** Relations entre la densité des cellules de cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant et la densité quantifiée par microscopie. A) Valeurs mesurées pour la souche unicellulaire de *Microcystis* (cercles noirs) et B) ces mêmes valeurs après la calibration *a posteriori* avec l'équation 1 (cercles bleus)..... 58
- Figure 2.2** Relations entre la densité des cellules de cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI calibré en laboratoire avec la souche unicellulaire de *Microcystis* et la densité quantifiée par microscopie. A) Valeurs mesurées pour la souche unicellulaire (cercles blancs) et B) coloniale (cercles gris) de *Microcystis*..... 58
- Figure 2.3** Relations entre la biomasse totale estimée à partir de la FIV de la Chl-a par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant et la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie. A) Valeurs mesurées pour la souche unicellulaire (triangles noirs) et B) coloniale (triangles gris) de *Microcystis*..... 59
- Figure 2.4** Relations, pour une souche unicellulaire de *Microcystis*, entre A) la biomasse des cyanobactéries (cercles noirs) ou B) la biomasse totale (triangles noirs) estimée à partir de la FIV de la Chl-a par le fluorimètre BBE calibré par le fabricant et la biomasse quantifiée par spectrofluorimétrie..... 60
- Figure 2.5** Relations, pour une souche coloniale de *Microcystis*, entre A) la biomasse des cyanobactéries (cercles gris) ou B) la biomasse totale (triangles gris) estimée à partir de la FIV de la Chl-a par le fluorimètre BBE calibré par le fabricant et la biomasse quantifiée par spectrofluorimétrie..... 60
- Figure 3.1** Localisation des stations d'échantillonnage sur le lac Saint-Charles pendant les périodes d'échantillonnages en 2007 et 2008. Les sites C4 et C5 sont étudiés dans cette étude ainsi que dans celle de Bourget (2010)..... 81
- Figure 3.2** Relations entre la densité des cellules de cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant et la densité «équivalente» quantifiée par microscopie. A) Valeurs mesurées au lac Saint-Charles en 2007 (cercles noirs) et B) ces mêmes valeurs après la calibration *a posteriori* avec l'équation 1 (cercles bleus) ou l'équation 2 (cercles blancs)..... 82
- Figure 3.3** Relations entre la densité des cellules de cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant et la densité «équivalente» quantifiée par microscopie. A) Valeurs mesurées au lac Saint-Charles en 2008 (cercles noirs) et B) ces mêmes valeurs après la calibration *a posteriori* avec l'équation 1 (cercles bleus) ou l'équation 3 (cercles blancs)..... 76
- Figure 3.4** Relations entre la biomasse totale estimée à partir de la FIV de la Chl-a détectée au lac Saint-Charles par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant et la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie A) en 2007 et B) en 2008. Valeurs brutes mesurées (cercles noirs) et ces mêmes valeurs après la calibration *a posteriori* avec l'équation indiquée: A) $y = 2.3 x - 0.6$ et B) $y = 1.5 x + 0.9$ 83
- Figure 3.5** Relations entre A) la biomasse des cyanobactéries (cercles noirs), B) la biomasse des cyanobactéries et des cryptophytes (carrés noirs) ou C) la biomasse totale (triangles noirs) estimée à partir de la FIV de la Chl-a par le fluorimètre BBE calibré par le fabricant au lac Saint-Charles en 2007 et la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie..... 84

- Figure 3.6** Relations entre A) la biomasse des cyanobactéries (cercles noirs), B) la biomasse des cyanobactéries et des cryptophytes (carrés noirs) ou C) la biomasse totale (triangles noirs) estimées à partir de la FIV de la Chl-a par le fluorimètre BBE calibré par le fabricant au lac Saint-Charles en 2008 et la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie..... 85
- Figure 3.7** Relations entre la biomasse totale estimée à partir de la FIV de la Chl-a détectée au lac Saint-Charles par le fluorimètre BBE calibré par le fabricant et la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie A) en 2007 et B) en 2008. 86
- Figure 3.8** Évolution de la densité des cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant au site C5 du lac Saint-Charles sur l'ensemble de la colonne d'eau pendant la période d'échantillonnage en 2007. A) Valeurs après la calibration *a posteriori* avec l'équation 1 ou B) l'équation 2.)..... 87
- Figure 3.9** Évolution de la densité des cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant au site C5 du lac Saint-Charles sur l'ensemble de la colonne d'eau pendant la période d'échantillonnage en 2008. A) Valeurs après la calibration *a posteriori* avec l'équation 1 ou B) l'équation 3..... 87
- Figure 3.10** Évolution de l'assemblage de la communauté phytoplanctonique dans l'épilimnion du lac Saint-Charles pendant la période d'échantillonnage A) en 2007 et B) en 2008..... 88
- Figure 3.11** Évolution de la densité des genres de cyanobactéries dans l'épilimnion du lac Saint-Charles pendant la période d'échantillonnage A) en 2007 et B) en 2008. Les genres de cyanobactéries qui peuvent former des efflorescences sont identifiés par une coloration bleue (formes coloniales) ou jaune (formes filamenteuses). Les picocyanobactéries sont identifiées par une coloration blanche tandis que la coloration grise indique d'autres genres de cyanobactéries qui ne forment pas d'efflorescences..... 89
- Figure 3.12** Efflorescence de cyanobactéries observée dans la Baie de l'Écho du lac Saint-Charles le 3 septembre 2007, formée de deux espèces ayant un potentiel toxique. A) *Anabaena cf. flos-aquae* (indiquée par la flèche) et *M. aeruginosa*, échelle = 150 µm. B) Colonie d'*Anabaena* avec des hétérocystes (H), échelle = 30 µm..... 90
- Figure 3.13** Efflorescence de cyanobactéries observée dans la Baie de l'Écho du lac Saint-Charles le 26 septembre 2007 (photo de S. Bourget)..... 90

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1: Principaux genres de cyanobactéries, de forme coloniale ou filamenteuse, qui forment des efflorescences dans les écosystèmes aquatiques d'eau douce, estuariens ou marins, qui peuvent avoir un potentiel toxique et dont certains genres peuvent réguler leur flottaison et/ou fixer l'azote atmosphérique (adapté de Oliver et Ganf 2000, Codd <i>et al.</i> 2005, Paerl et Fulton 2006, Stewart <i>et al.</i> 2006).....	17
Tableau 1.2. Exemples de seuils décisionnels pour l'évaluation du risque associé aux cyanobactéries. Cette liste n'est pas exhaustive, elle est conçue à titre indicatif.....	33
Tableau 1.3 Groupes spectraux de phytoplancton (adapté de Beutler <i>et al.</i> 1998, Jeffrey et Vesk 1997).....	36
Tableau 2.1 Erreur relative (%) moyenne entre la densité des cellules de la souche unicellulaire de <i>Microcystis</i> estimée par le YSI selon les différents types de calibration et la densité quantifiée par microscopie.....	61
Tableau 2.2 Erreur relative (%) moyenne entre la densité des cellules des souches unicellulaire et coloniale de <i>Microcystis</i> estimée par le YSI calibré en laboratoire avec la souche unicellulaire de <i>Microcystis</i> et la densité quantifiée par microscopie.....	61
Tableau 2.3 Limites de détection (LDM) et limites de quantification (LQM) de la densité de cellules cyanobactériennes estimée par le YSI calibré en laboratoire, pour les souches unicellulaire et coloniale de <i>Microcystis</i>	61
Tableau 3.1 Erreur relative (%) moyenne entre la densité des cellules de cyanobactéries estimée avec le fluorimètre YSI au lac Saint-Charles, selon différents types de calibration (du fabricant et calibration <i>a posteriori</i> avec l'équation 1, 2 ou 3) et la densité «équivalente» quantifiée par microscopie.	91



Première partie

Synthèse

CHAPITRE 1: SYNTHÈSE

1. Problématique générale

Les efflorescences de cyanobactéries et leurs toxines constituent une menace importante pour la qualité de l'eau, l'intégrité des écosystèmes aquatiques et pour la santé humaine (Huisman *et al.* 2005). Depuis les dernières décennies, la fréquence des efflorescences de cyanobactéries connaît une augmentation importante à l'échelle mondiale (Chen *et al.* 2003). Au Québec, entre 2004 et 2010, jusqu'à 156 plans d'eau ont été officiellement répertoriés dans le bilan des lacs et cours d'eau «touchés» par une fleur d'eau d'algues bleu-vert (MDDEP 2010) et, dès 2006, la présence de cyanobactéries à potentiel toxique a été observée au lac Saint-Charles, utilisé comme réserve d'eau potable par la ville de Québec (APEL 2009). Les cyanobactéries qui forment des efflorescences potentiellement toxiques sont particulièrement abondantes dans les écosystèmes d'eau douce riches en nutriments et constituent un problème majeur pour les gestionnaires de la ressource eau (Huisman *et al.* 2005).

Les cyanobactéries qui forment des efflorescences nuisibles possèdent plusieurs caractères pour optimiser leur développement, notamment la capacité à réguler leur flottabilité dans la colonne d'eau et des adaptations morphologiques qui leur permettent de minimiser les pertes associées à la sédimentation et à la prédation par des organismes brouteurs (Gons *et al.* 2005). Ces caractères supportent la formation rapide des efflorescences de cyanobactéries, en particulier si les conditions lumineuses et la disponibilité des nutriments sont favorables. La distribution spatiale et temporelle des cyanobactéries peut être complexe en milieu naturel. Les efflorescences de cyanobactéries peuvent être initiées dans des zones de recrutement offrant des conditions optimales et puis se propager vers d'autres zones d'un plan d'eau en fonction de la morphométrie et de l'hydrologie du bassin (Oliver et Ganf 2000, Gons *et al.* 2005). Les efflorescences de cyanobactéries à la surface d'un plan d'eau peuvent être poussées par le vent et ainsi former des écumes ou s'accumuler sur la berge. De plus, la capacité à réguler la flottaison permet à plusieurs espèces de cyanobactéries de former des couches denses à des profondeurs variables (par ex. dans le métalimnion). Dans ce contexte, un échantillonnage réalisé uniquement en surface ou jusqu'à un mètre sous la surface de l'eau ne permet pas de détecter les accumulations de cyanobactéries en profondeur dans la colonne d'eau.

Le suivi de la composition taxonomique et de l'abondance spécifique des cyanobactéries et du phytoplancton est généralement réalisé par microscopie, une méthode conventionnelle essentielle mais peu rapide et dispendieuse. Pour cette raison, les campagnes de suivi des cyanobactéries réalisées sont peu nombreuses et les patrons spatiaux temporels des efflorescences de cyanobactéries dans les grandes étendues d'eau continentales sont peu

connus (Gons *et al.* 2005). La disponibilité de méthodes rapides et rentables pour décrire la distribution de la biomasse des cyanobactéries dans un plan d'eau est importante, en particulier pour développer des modèles permettant de prédire la formation des efflorescences et pour mieux gérer la ressource (Gons *et al.* 2005). La méthode de détection des cyanobactéries à prioriser doit être rapide, sensible et simple à interpréter afin de pouvoir suivre la variabilité spatio-temporelle de la biomasse cyanobactérienne sur toute la profondeur de la colonne d'eau, et ce à une fréquence élevée. La méthode retenue doit également permettre de détecter les cyanobactéries avant que leur densité ne soit élevée et qu'elles ne forment des efflorescences à la surface d'un plan d'eau. Dans les écosystèmes aquatiques d'eau douce, la détection de la fluorescence *in vivo* (FIV) du pigment phycocyanine (PC) a été associée à la présence des cyanobactéries et utilisée comme un indice de suivi (par ex. Gregor *et al.* 2005, 2007, Ahn *et al.* 2007, Brient *et al.* 2008). Toutefois, la performance des fluorimètres pour faire le suivi rapide des cyanobactéries doit être validée pour chacun des sites d'étude car le signal de FIV détecté peut varier selon le type d'appareil, la calibration appliquée et en fonction des caractéristiques propres à l'écosystème et aux différents taxons qui composent les communautés de phytoplancton (MacIntyre *et al.* 2011).

2. Introduction

2.1 Les cyanobactéries

Importance écologique des cyanobactéries

Les cyanobactéries sont les premiers organismes de l'histoire de l'évolution à produire de l'oxygène et sont les ancêtres des végétaux présents dans les écosystèmes terrestres contemporains (Huisman *et al.* 2005). Des stromatolites (dépôts calcaires stratifiés formés lors de l'adsorption de sédiments riches en calcium par des biofilms de cyanobactéries ou lors de la précipitation de carbonates de calcium sur des biofilms de cyanobactéries) se sont développés dans un environnement sans oxygène il y a plus de 3.5 milliards d'années, et ont exercé un rôle décisif dans la concentration en oxygène de l'atmosphère primitive et dans la formation de la couche d'ozone (Schopf et Walter 1982, Taylor et Taylor 1993, Fujita *et al.* 1994, Grotzinger et Rothman 1996). Avec le phytoplancton eucaryote, les cyanobactéries forment la base de la chaîne alimentaire dans les écosystèmes aquatiques contemporains (Huisman *et al.* 2005). De plus, les cyanobactéries peuvent produire des composés malodorants et des toxines, les cyanotoxines (Chorus et Bartram 1999), et elles sont impliquées dans les cycles globaux du carbone et de l'azote (Raven *et al.* 2000, Oliver et Ganf 2000).

La diversité des cyanobactéries

Les cyanobactéries forment un groupe de micro-organismes procaryotes photosynthétiques diversifié aux points de vue physiologiques et écologiques, qui a développé de nombreuses adaptations en réponse aux changements chimiques survenus au cours de l'évolution de la biosphère (Paerl et Fulton 2006). La majorité des espèces de cyanobactéries sont des organismes photoautotrophes obligés. Elles prolifèrent généralement dans un milieu aérobie où l'énergie lumineuse est disponible, mais elles peuvent supporter des conditions anaérobies et survivre en absence de lumière pendant plusieurs mois ou années par un processus de respiration hétérotrophe (Fujita *et al.* 1994).

Dans les écosystèmes aquatiques, la diversité des cyanobactéries libres (non-symbiotiques) est importante; près de 10 000 espèces ont été décrites (voir Anagnostidis et Komarek 1990, Komarek et Anagnostidis 1989). Les cyanobactéries sont communes dans les communautés de phytoplancton de nombreux écosystèmes aquatiques continentaux des zones tempérées et tropicales (Chorus et Bartram 1999, Oliver et Ganf 2000). Certaines espèces de cyanobactéries peuvent proliférer dans des conditions extrêmes comme des sources thermales, sous la glace ou encore à des pH extrêmes. De nombreuses espèces de cyanobactéries (plus de 7500) se présentent sous forme symbiotique avec, entre autres, des champignons constituant les lichens, des plantes vasculaires, des amibes ou des protozoaires (Raven *et al.* 2000). Les cyanobactéries peuvent avoir une pigmentation variée, en particulier chez les espèces retrouvées dans les écosystèmes terrestres (par exemple: violette, bleue, vert, jaune, dorée, brune ou rouge). Les différents taxons de cyanobactéries peuvent être identifiés en fonction des dimensions et de la forme des cellules et des regroupements de cellules. Les cellules peuvent présenter une gamme de taille variée (pico: 0.2-2 μm ; nano: 2-20 μm ; micro: 20-200+ μm , Jeffrey et Hallegraeff 1990). Les cyanobactéries peuvent être observées sous différentes formes: une forme unicellulaire (par ex. la picocyanobactérie *Synechococcus*), sous forme de filaments séparés (par ex. *Planktothrix rubescens*) ou former des colonies de formes variables regroupant des cellules isolées (par ex. *Microcystis*) ou des filaments (par ex. *Aphanizomenon flos-aquae*; Visser *et al.* 2005). La taille des colonies formées est généralement supérieure à 200 μm et peut mesurer plus de 1 mm (Jeffrey et Vesk 1997, Oliver et Ganf 2000). Le volume des structures formées par les colonies peut atteindre une hausse de trois ordres de grandeur par rapport au biovolume d'une cellule, ce qui a des implications importantes pour plusieurs processus métaboliques incluant la régulation de la capacité de flottaison, la captation de la lumière, les échanges gazeux, l'incorporation des nutriments et permet également de minimiser les pertes associées à la prédation par des organismes brouteurs (Oliver et Ganf 2000, Visser *et al.* 2005). La densité des cellules au sein d'une colonie et le volume des colonies varient en

fonction de la croissance des cellules, de l'agrégation de plusieurs petites colonies et/ou de la désintégration des colonies. La taille et la morphologie des colonies peuvent également subir des changements saisonniers, tel qu'observé chez *Microcystis* (Reynolds *et al.* 1981). Certains taxons de cyanobactéries produisent une enveloppe mucilagineuse, une gaine ou une capsule qui réunit les regroupements de cellules. Ces paramètres peuvent varier significativement selon les taxons de cyanobactéries identifiés dans un plan d'eau (Huisman *et al.* 2005).

Les cyanobactéries peuvent également être classifiées en fonction de la niche écologique qu'elles exploitent. Par exemple, parmi les différentes espèces pélagiques, les genres de cyanobactéries qui adoptent une stratégie dispersive sont tolérantes à un environnement où la disponibilité des nutriments et l'irradiance sont faibles et le brassage est fort (Bonilla 2008). Les cyanobactéries *Oscillatoria*, *Lyngbya* (Gibson *et al.* 1988, Scheffer *et al.* 1997) et *Anabaena minutissima* (Walsby *et al.* 1989), généralement retrouvés sous la forme de courts filaments, sont productives dans ces conditions (Oliver et Ganf 2000). À l'opposé, les cyanobactéries qui forment des accumulations à la surface des plans d'eau sont généralement tolérantes à de fortes irradiances et sont favorisées par la stabilité de la colonne d'eau ainsi que par de fortes concentrations en nutriments. Enfin, les cyanobactéries qui peuvent fixer l'azote atmosphérique sont davantage tolérantes à une plus faible disponibilité de l'azote ainsi qu'à une stratification cyclique de la colonne d'eau (Bonilla 2008).

Les cyanobactéries qui forment des efflorescences

L'accumulation de cyanobactéries à la surface des plans d'eau a été historiquement désignée par le terme anglais « water bloom » (Reynolds et Walsby 1975). Le phénomène est également désigné par les termes « efflorescence », « floraison », par l'expression « fleur d'eau de cyanobactéries » et en anglais « HAB (harmful algal bloom) ». Les agrégats flottants qui se forment en surface peuvent être désignés comme des « écumes » ou « mousses » et en anglais « scums » (Oliver et Ganf 2000, Lavoie *et al.* 2007).

Les cyanobactéries qui forment des efflorescences sont présentes depuis plusieurs siècles dans les écosystèmes aquatiques riches en nutriments. Leur prolifération est en hausse depuis les dernières décennies et suit l'enrichissement des écosystèmes en cours d'eutrophisation (Paerl et Fulton 2006). Dans le cadre des programmes de gestion de l'eau potable et récréationnelle, une efflorescence de cyanobactérie est fréquemment définie en termes de densité cellulaire associée à un effet néfaste pour la santé (par ex. seuil de 20 000 cellules ml⁻¹, voir section 2.4). Roelke et Buyukates (2002) définissent une efflorescence comme une déviation de l'état normal d'un écosystème, associée à une perturbation du patron de succession du phytoplancton normalement attendu pour un écosystème non perturbé. Selon la définition proposée par Oliver

et Ganf (2000), une efflorescence décrit une accumulation importante de biomasse de phytoplancton qui est significativement supérieure à la moyenne mesurée pour un lac donné. Selon cette définition, les lacs oligotrophes peuvent également supporter l'apparition d'efflorescences de cyanobactéries, bien que ce concept soit généralement associé aux écosystèmes aquatiques eutrophes ou en cours d'eutrophisation. Les efflorescences de cyanobactéries sont associées à une perte de diversité spécifique car elles sont généralement composées d'une ou deux espèces. Plusieurs genres de cyanobactéries planctoniques ont été décrites dans des écosystèmes d'eau douce, estuariens ou marins, où elles peuvent soutenir un taux de croissance important et former des efflorescences (tableau 1.1). Dans les lacs eutrophes situés en zone tempérée de l'hémisphère nord, les populations de cyanobactéries sont généralement dominées par le genre *Microcystis* ou par des cyanobactéries filamenteuses de la famille des Nostocales (Oliver et Ganf 2000).

Tableau 1.1: Principaux genres de cyanobactéries, de forme coloniale ou filamenteuse, qui forment des efflorescences dans les écosystèmes aquatiques d'eau douce, estuariens ou marins, qui peuvent avoir un potentiel toxique et dont certains genres peuvent réguler leur flottaison et/ou fixer l'azote atmosphérique (adapté de Oliver et Ganf 2000, Codd *et al.* 2005, Paerl et Fulton 2006, Stewart *et al.* 2006).

Genre de cyanobactéries	Écosystème eau douce (ed), estuarien (es), marin (ma)	Potentiel toxique* cytotoxines (C), dermatotoxines (D), endotoxines (E), hépatotoxines (H), neurotoxines (Ne)	Capacité à réguler la flottaison	Capacité à fixer l'azote atmosphérique
de forme coloniale				
<i>Coelosphaerium</i>	ed	E	+	-
<i>Gomphosphaeria</i>	ed	E	+	-
<i>Microcystis</i>	ed, es	E, H	+	-
de forme filamenteuse				
<i>Anabaena</i>	ed, es, ma	C, E, H, Ne	+	+, hétérocystes
<i>Anabaenopsis</i>	ed	E, H	+	+
<i>Aphanizomenon</i>	ed, es	C, E, H, Ne	+	+, hétérocystes
<i>Cylindrospermopsis</i>	ed	C, E, H, Ne	+	+, hétérocystes
<i>Gloeotrichia</i>	ed	E	+	+, hétérocystes
<i>Lyngbya</i>	ed, es, ma	C, D, E, Ne	-	+
<i>Nodularia</i>	ed, es, ma	E, H	+	+, hétérocystes
<i>Nostoc</i>	ed, es, ma	E, H	-	+, hétérocystes
<i>Oscillatoria</i>	ed, es, ma	C, D, E, H, Ne	+	+
<i>Planktothrix</i>	ed, es	E, H, Ne	-	-
<i>Scytonema</i>	ed, es, ma	E	-	+, hétérocystes
<i>Spirulina</i>	ed	E	+	-

* Les populations naturelles peuvent être composées de génotypes toxiques et non toxiques.

Toxicité potentielle des cyanobactéries

Dans les écosystèmes naturels, la synthèse de composés toxiques par les cyanobactéries participe à leur succès contre leurs compétiteurs et prédateurs (Keating 1977, Gross 2003, Huisman et Hulot 2005). Par exemple, la cyanobactérie *Anabaena flos-aquae* peut produire une toxine qui paralyse l'algue verte *Chlamydomonas* (Kearns et Hunter 2001) et la cyanobactérie *Microcystis* peut inhiber la fixation du carbone chez certains taxons de phytoplancton (Sukenik *et al.* 2002). Les toxines de cyanobactéries causent des problèmes de santé chez les invertébrés et les vertébrés à de faibles doses (μg par kg de masse corporelle; Codd *et al.* 2005). Le développement et la survie des embryons de poissons peuvent être altérés à la suite d'une exposition aux concentrations de microcystine pouvant être retrouvées dans les lacs et les réservoirs (0.5 à $13.0 \mu\text{g L}^{-1}$; Oberemm *et al.* 1999, Palikova *et al.* 2003, Codd *et al.* 2005). De nombreux épisodes d'efflorescences de cyanobactéries ont été associés à des mortalités de bovins, porcs, chevaux, buffles, moutons, chiens, chats, poulets, canards, dindes et oies (Codd *et al.* 2005). La mortalité d'animaux sauvages a également été observée chez des grenouilles, salamandres, rats musqués, visons, écureuil, moutettes, chevreuils, cygnes, goélands, faucons, et même chez des abeilles (Yoo *et al.* 1995, Codd *et al.* 2005). L'exposition aux cyanotoxines est généralement associée à la consommation d'eau, mais il est possible qu'elles soient transmises via la chaîne alimentaire (par ex. chez les rats musqués; Codd *et al.* 2005). En plus de limiter la compétition et la prédation, il a également été suggéré que les cyanotoxines soient impliquées dans le métabolisme cellulaire des cyanobactéries qui les produisent, en exerçant une fonction régulatrice ou encore comme chélateur jouant un rôle dans l'inactivation du fer libre (Fe^{2+}) dans la cellule (Utkilen et Gjølme 1995). Par ailleurs, Dittmann *et al.* (2001) ont suggéré que la toxine microcystine pourrait agir comme un moyen de communication (*quorum-sensing*) entre les cellules d'une même colonie, notamment afin de réguler certains comportements comme l'agrégation de la population en colonies. Il a été démontré que la production de toxines augmente avec la taille des colonies chez la cyanobactérie *Microcystis* (Kurmayer *et al.* 2003).

Les habitudes de croissance des cyanobactéries, telles que la formation d'efflorescences et d'écume, peuvent générer de fortes accumulations de biomasse et la concentration des cyanotoxines (Codd *et al.* 2005). La formation d'efflorescences de cyanobactéries dans les lacs et les réservoirs d'eau potable entraîne une diminution de la qualité de la ressource et un risque important pour la santé. Un volume aussi petit que $5 \mu\text{l}$ d'une écume dense peut contenir une dose létale de toxines (Reynolds 1991, Visser *et al.* 2005). Les cyanobactéries ont été associées à des irritations cutanées et une détérioration de la santé humaine dès 1884 (Benecke 1884 dans Codd *et al.* 2005). De nombreuses études ont documenté les effets néfastes pour la santé humaine d'une exposition à des cyanotoxines par la consommation

d'eau (Falconer *et al.* 1983, Yu 1995, Teixeira *et al.* 1993, Annadotter *et al.* 2001), après un contact lors d'activités récréationnelles ou occupationnelles (Turner *et al.* 1990, Pilotto *et al.* 1997) ou à la suite de traitements d'hémodialyse (Hindman *et al.* 1975, Carmichael *et al.* 2001; Carmichael *et al.* 2002). Les expositions superficielles lors d'activités récréatives sont généralement associées à une détérioration mineure de la santé (Codd *et al.* 2005). Par exemple, des événements documentés entre 1996 et 1998 chez des nageurs et des pêcheurs de la côte du Queensland en Australie incluent des irritations cutanées et une atteinte du système respiratoire (Dennison *et al.* 1999). Par contre, une forte exposition aux cyanotoxines peut entraîner le décès, comme ce fut le cas pour plusieurs patients traités par une clinique d'hémodialyse à Rio de Janeiro en 2001 (Carmichael *et al.* 2001). Ce type d'incidents a accentué l'intérêt et l'implication des professionnels de la santé, des épidémiologistes, des biologistes et des gestionnaires de l'eau pour étudier les besoins ainsi que formuler et appliquer des politiques afin de réduire le risque pour la santé lié aux cyanotoxines (Codd *et al.* 2005).

Plus de 40 genres de cyanobactéries toxiques sont connus, les genres plus importants étant *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Oscillatoria* et *Planktothrix* (Carmichael 2001). Certains genres de cyanobactéries peuvent synthétiser des cyanotoxines ainsi que des métabolites secondaires comme des composés malodorants. La toxicité des cyanobactéries est liée à des toxines intracellulaires qui sont libérées dans l'eau lors de la sénescence et de la lyse des cellules et, dans une moindre mesure, à des polysaccharides dans les parois des cellules. Les cyanobactéries peuvent produire une gamme variée de toxines incluant des peptides cycliques, des composés hétérocycliques et des lipides (Carmichael 1997, 2001, Sivonen 2000, Visser *et al.* 2005). La structure chimique des molécules permet de distinguer plusieurs types de cyanotoxines: microcystines, nodularines, cylindrospermopsines, anatoxines, saxitoxines, lyngbyatoxines, aplysiatoxines, lipopolysaccharides (Codd *et al.* 2005). Les toxines sont généralement classées selon leur effet sur la santé humaine. Les hépatotoxines exercent principalement un effet délétère sur le foie tandis que les neurotoxines affectent le système nerveux. Les cytotoxines, les dermatotoxines et les endotoxines sont des agents inflammatoires qui peuvent avoir un effet irritant lorsqu'elles entrent en contact avec la peau. De plus, les différentes classes de cyanotoxines peuvent exercer un effet néfaste sur le métabolisme cellulaire, par exemple en inhibant ou activant certaines protéines, en affectant l'intégrité des membranes et en promouvant la formation de tumeurs. Les populations naturelles de cyanobactéries peuvent synthétiser plusieurs toxines et peuvent être composées d'un mélange de génotypes toxiques et non-toxiques (Sivonen et Jones 1999, Rogalus et Watzin 2008). Par exemple, la proportion des souches de cyanobactéries toxiques dans un lac eutrophe au Japon variait de 6 à 86 % en fonction de certains facteurs environnementaux (Shirai *et al.* 1991).

Étant donné que les analyses de cyanotoxines sont relativement dispendieuses, il est difficile d'estimer le risque sanitaire en raison de la variabilité des périodes d'exposition, du manque de connaissances sur l'ensemble des cyanotoxines caractérisées (plus de 90 variantes) et de la variabilité des cibles (par ex. foie, système nerveux, peau; Codd *et al.* 2005). Le risque sanitaire est également influencé par le degré de contamination de l'eau et la distribution hétérogène de la biomasse des cyanobactéries dans le plan d'eau (Brient *et al.* 2008). Pour ces raisons, il est impossible de suivre le risque associé à l'ensemble des cyanotoxines dans le cadre d'un programme de suivi routinier (Gregor *et al.* 2007). Par ailleurs, de fortes concentrations de cyanotoxines peuvent être mesurées en absence d'efflorescences de cyanobactéries, à la suite de leur déplacement dans le plan d'eau (Sivonen et Jones 1999, Jacoby *et al.* 2000).

Capacité à réguler la flottaison, formation et devenir des efflorescences de cyanobactéries

Plusieurs genres de cyanobactéries qui forment des efflorescences ont la capacité de réguler leur flottaison (voir tableau 1.1) en régulant leur taux de synthèse de vacuoles de gaz. La hausse du taux de production de vacuoles de gaz par rapport à la croissance cellulaire permet à la cellule de maintenir une faible densité, afin de compenser l'effet de lest associé à la formation de réserves de phosphore et à l'accumulation d'hydrates de carbone et de protéines pendant la photosynthèse (Oliver et Ganf 2000). Cette capacité à contrôler leur position dans la colonne d'eau fournit un avantage significatif par rapport aux espèces non-mobiles qui sédimentent plus rapidement et permet aux populations de cyanobactéries d'améliorer leurs conditions de croissance et de réduire les pertes par sédimentation (Ganf et Oliver 1982, Reynolds 1984b). Le succès des cyanobactéries qui peuvent migrer verticalement dans la colonne d'eau est surtout associé à leur capacité à réguler leur flottaison en réponse aux variations des conditions environnementales (Huisman et Hulot 2005). Par exemple, la migration en profondeur dans la colonne d'eau permet aux cyanobactéries d'éviter l'exposition à une intensité lumineuse excessive et aux rayons ultraviolets (Oliver et Ganf 2000). Des efflorescences de courte durée peuvent apparaître périodiquement, par exemple en réponse à des variations cycliques de la densité des populations ou à des événements météorologiques quotidiens (Oliver et Ganf 2000). Les efflorescences de cyanobactéries s'accumulent fréquemment à la surface d'un plan d'eau en présence de conditions calmes suivant une période de brassage (Reynolds 1984a). L'ajustement de la flottaison peut nécessiter un délai, par exemple lorsque les conditions hydrologiques varient rapidement. Plusieurs études ont documenté un cycle diurne caractérisé par une « disparition » des cyanobactéries de la surface du plan d'eau en après-midi suivi d'une réapparition le matin suivant (Ganf 1974, Walsby *et al.* 1983, Walsby et McAllister 1987). De fortes densités de cellules peuvent apparaître le matin car les réserves d'hydrates de carbone ont diminué pendant la période d'obscurité. Lorsque les cyanobactéries remontent vers la

surface et accèdent à des conditions lumineuses suffisantes, l'activité photosynthétique reprend, puis les cellules s'alourdissent et coulent vers l'hypolimnion en profondeur, permettant de profiter des nutriments (Ganf 1974, Ibelings *et al.* 1991, Horne et Goldman 1994). La grande taille des colonies formées par la cyanobactérie *Microcystis* favorise un déplacement rapide particulièrement bien adapté aux lacs avec des conditions de stratification et de brassage en alternance (Oliver et Ganf 2000). Dans les lacs oligotrophes ou mésotrophes, les cyanobactéries filamenteuses comme *Aphanizomenon* et *Anabaena* peuvent former des populations importantes dans le métalimnion, à une profondeur où la lumière pénètre assez profondément et la disponibilité des nutriments est favorisée par la présence d'ondes internes (voir Pannard *et al.* 2011). Lorsque les conditions environnementales ne sont plus adéquates, les espèces de cyanobactéries situées dans le métalimnion peuvent former des agrégats de filaments et migrer vers la surface (Walsby *et al.* 1983). À l'opposé de ces phénomènes cycliques, les efflorescences de cyanobactéries peuvent persister plusieurs semaines et jusqu'à plusieurs mois dans certains cas (par ex. Robarts et Zohary 1984, Zohary et Robarts 1989). La persistance des efflorescences à la surface de plan d'eau a été interprétée comme une incapacité des cellules à réguler la flottaison en présence de dommages physiologiques, de la sénescence des cellules ou encore à la suite d'une obstruction physique par une forte densité de cyanobactéries qui flottent efficacement sous la surface (Ibelings et Mur 1992, Walsby 1994). L'incapacité à réguler la flottaison peut également être influencée par des fluctuations extrêmes de température et d'oxygène dissous et par une faible disponibilité du carbone inorganique dissous (CID) dans la couche d'eau où sont concentrées les cyanobactéries. Les cellules retenues à la surface peuvent être soumises à une intensité lumineuse trop élevée, ce qui peut exacerber les dommages physiologiques et mener à la lyse des cellules (Ibelings et Mur 1992, Oliver et Ganf 2000).

L'intensité des efflorescences qui s'accumulent en surface dépend de la biomasse totale des cyanobactéries dispersées dans la colonne d'eau. Bien que la densité d'une population de cyanobactéries puisse être initialement faible lorsqu'elle est distribuée dans la colonne d'eau, les efflorescences peuvent atteindre des densités élevées une fois accumulées à la surface (Huisman et Hulot 2005). La densité des cellules et la concentration des toxines à la surface d'un plan d'eau peuvent augmenter rapidement par 3 ordres de grandeur si les effets de la capacité à flotter et l'action du vent sont combinés (Chorus et Bartram 1999). Par exemple, une population de cyanobactéries avec une densité de 2000 cellules ml^{-1} dispersée de façon homogène sur cinq mètres de profondeur peut atteindre une densité de 500 000 cellules ml^{-1} si la population est concentrée sur une couche de 2 cm (Oliver et Ganf 2000). Les efflorescences de cyanobactéries peuvent être poussées vers la berge en présence de vent et former une couche d'écume dense en seulement quelques heures (Huisman et Hulot 2005).

Capacité à fixer l'azote atmosphérique

Plusieurs genres de cyanobactéries filamenteuses ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique (N_2). Certains genres comme *Anabaena*, *Aphanizomenon* et *Nostoc* forment des hétérocystes, des cellules spécialisées pour la fixation d'azote, tandis que d'autres genres comme *Gloeocapsa*, *Oscillatoria* et certaines espèces de *Synechococcus* n'ont pas développé de cellules spécialisées bien qu'elles puissent fixer l'azote atmosphérique (voir tableau 1.1; Bergman *et al.* 1997, Oliver et Ganf 2000). La fixation d'azote sous la forme N_2 est coûteuse d'un point de vue physiologique, mais elle fournit un avantage compétitif en constituant une source importante de ce nutriment dans les plans d'eau où la disponibilité de l'azote inorganique est faible ($< 50 - 100 \mu\text{g L}^{-1}$; Horne et Commins 1987, Schindler 1977, Flett *et al.* 1980). Dans les plans d'eau typiques du Bouclier canadien, la fixation de l'azote par les cyanobactéries se produit lorsque le rapport de charge N: P est inférieur à 10 (Flett *et al.* 1980). Les populations de cyanobactéries fixatrices d'azote sont généralement limitées par la disponibilité du phosphore (Oliver et Ganf 2000).

Appareil photosynthétique spécialisé

À la différence des algues eucaryotes et des plantes, chez les cyanobactéries, les complexes antennaires qui assurent la captation de la lumière sont composés de pigments phycobiliprotéines (PBP) en plus des pigments chlorophylliens et caroténoïdes (Oliver et Ganf 2000, Beutler *et al.* 2003). Cet appareil photosynthétique spécialisé permet aux cyanobactéries de capter l'énergie lumineuse à des longueurs d'onde (nm) qui ne sont pas captées par les autres pigments et ainsi s'adapter aux variations de l'intensité du rayonnement solaire, de la photopériode et de la composition spectrale de l'eau. Le rôle principal des PBP est de capter l'énergie lumineuse nécessaire à la photosynthèse afin de permettre aux cyanobactéries de capter une portion du spectre lumineux qui est généralement moins bien exploitée par le phytoplancton eucaryote, en particulier la lumière verte, jaune et orange proportionnellement plus abondante en profondeur (Mur *et al.* 1999).

Les PBP sont composées d'apo-protéines ayant un lien covalent avec des chromophores. Les cyanobactéries bleues possèdent un complexe antennaire formé de deux pigments qui contiennent des chromophores phycocyanobiline de couleur bleue, la phycocyanine (PC) et d'allophycocyanine (APC). Le complexe antennaire des cyanobactéries de couleur rouge possède une structure analogue à celui des cyanobactéries bleues, mais il est également constitué du pigment phycoérythrine (PE), qui contient des chromophores phycoérythrobiniline de couleur rouge (Beutler *et al.* 2003). Les PBP sont des pigments fortement fluorescents (Bryant *et al.* 1979). Les PBP forment des supramolécules complexes, nommées

phycobilisomes (PBS), dont la structure est organisée pour que la lumière captée soit transférée depuis les pigments PE ou PC vers l'APC avant d'être transférée vers la chlorophylle-a (Chl-a). Cette énergie est alors impliquée dans les processus photosynthétiques se déroulant dans le photosystème II (PSII) ou occasionnellement le photosystème I (PSI; MacColl 1998, Glazer 1989, Bryant 1994).

Régulation de la concentration pigmentaire

Les cyanobactéries peuvent répondre aux conditions changeantes de l'environnement en adaptant de façon continue plusieurs caractéristiques de l'appareil photosynthétique, par exemple la taille, la densité, la composition et la distribution des pigments photosynthétiques dans les cellules, la composition et le niveau d'activité des enzymes photosynthétiques ainsi que le rendement de fluorescence (Bryant *et al.* 1979, Therriault *et al.* 1990, Grossman *et al.* 2001, Eriksen 2008). L'adaptation de l'appareil photosynthétique aux conditions environnementales induit une modification de la concentration de PC ou PE dans les phycobilisomes ainsi qu'une modification de la taille et du nombre de centres de réaction du PSI (Bryant *et al.* 1979, Kawamura *et al.* 1979, Schubert et Hagemann 1990, Müller *et al.* 1993, Bryant 1994). Cette variabilité induit des changements importants dans les ratios de PC: Chl-a et de PSI: PSII (Kawamura *et al.* 1979, Schubert et Hagemann 1990). La synthèse de PC est stimulée en présence de faibles intensités lumineuses (Sloth *et al.* 2006, Chaneva *et al.* 2007) et réprimée par de fortes intensités lumineuses (Venugopal *et al.* 2006). Les travaux de Tandeau et Marsac (1977) ont démontré que chez certaines cyanobactéries, le taux de synthèse de la PE est maximal et celui de la PC est minimal mais jamais nul en présence de lumière verte tandis que la lumière rouge est associée à un taux maximal de synthèse de PC et à un taux minimal ou nul de PE. La synthèse de PC peut être stimulée par la disponibilité du carbone organique tel qu'observé chez *Anabaena* spp. (Venugopal *et al.* 2006, Vasudevan *et al.* 2007) mais l'effet n'est pas toujours présent de façon significative chez certaines espèces comme *A. platensis* (Marquez *et al.* 1993, Narayan *et al.* 2005). La température peut affecter l'accumulation de PC et d'APC, tel que démontré expérimentalement avec l'espèce *Arthronema africanum* (Chaneva *et al.* 2007).

Ce groupe de pigments accessoires peut constituer le type de protéines le plus abondant chez les cyanobactéries, mais il n'est pas essentiel au fonctionnement des cellules (Eriksen 2008). Les PBP peuvent exercer un rôle secondaire de réserve intracellulaire d'azote (Allen et Smith 1969, Yamanaka et Glazer 1980, Sloth *et al.* 2006). Ces pigments requièrent de fortes concentrations en azote inorganique pour leur synthèse et ils peuvent donc servir de réserve d'azote pouvant être mobilisée lorsque la croissance des cellules est limitée par ce nutriment (Huisman et Hulot 2005). Après avoir d'abord induit la désintégration des réserves d'azote

constituées sous la forme de granules de cyanophycine, le métabolisme des cyanobactéries mobilise les pigments PBP, ce qui entraîne la décoloration des cellules (Allen 1984, Tandeau de Marsac et Houmard 1993). Les PBP peuvent également être dégradées lorsque les cyanobactéries sont limitées en fer (Straus 1994). Ces modifications de la concentration pigmentaire peuvent influencer les paramètres physiologiques des cellules, en particulier la fluorescence *in vivo* (MacIntyre *et al.* 2011, voir section 2.5).

2.2 Facteurs écologiques influençant le développement des efflorescences de cyanobactéries

La dominance des cyanobactéries ne peut être prédite ou expliquée par un seul facteur, mais certaines généralisations peuvent être faites (Yoo *et al.* 1995). Le phosphore et la stabilité de la colonne d'eau semblent être les facteurs clés directement impliqués dans la prolifération des efflorescences de cyanobactéries. Le phosphore est l'élément limitant dans la plupart des écosystèmes aquatiques et son enrichissement est généralement reconnu comme le principal responsable du développement des efflorescences de cyanobactéries. Plusieurs études mentionnent qu'un faible ratio entre l'azote et le phosphore favorise les cyanobactéries qui peuvent fixer l'azote atmosphérique (Schindler 1977, Smith 1983, Howarth *et al.* 1988). Les conditions climatiques exercent une influence sur le degré de stratification et de brassage de la colonne d'eau ainsi que sur la disponibilité de la lumière et des nutriments, lesquels influencent la distribution verticale, la composition spécifique, la densité des cellules ainsi que la période et la longévité des efflorescences de cyanobactéries (Oliver et Ganf 2000).

Les cyanobactéries qui forment des efflorescences peuvent elles-mêmes affecter la disponibilité de l'énergie lumineuse et de certains nutriments ainsi que la stabilité de la colonne d'eau en modifiant la productivité de l'écosystème, notamment par leur production importante de matière organique. Les cyanobactéries accumulées en forte densité à la surface influencent la profondeur à laquelle la lumière pénètre dans la colonne d'eau car les vésicules de gaz qui assurent la flottaison induisent la dispersion de la lumière selon un plan horizontal (Walsby 1994). Ce phénomène augmente la probabilité d'interception de la lumière par les organismes photosynthétiques situés dans la couche d'eau près de la surface, en particulier les genres de cyanobactéries qui forment des efflorescences comme *Microcystis*. Lorsque la densité des cyanobactéries est importante, l'absorption élevée de la lumière peut également mener à une hausse de la température de l'eau en surface (Ibelings *et al.* 2003). Ces conditions empêchent la lumière d'être transmise aux profondeurs inférieures, affectant négativement le succès des autres organismes photosynthétiques. Tel qu'observé lors de l'étude de populations de *Microcystis* et *Anabaena* au lac Biwa, la présence d'efflorescences de cyanobactéries en surface peut également exacerber la stratification thermique de la colonne d'eau, ce qui a pour effet de hausser davantage sa stabilité et d'optimiser la croissance des cyanobactéries

(Kumagai *et al.* 2000). De plus, après la sénescence des cellules, cette matière organique sédimente au fond du lac où elle favorise l'apparition d'une zone d'hypoxie ou d'anoxie. Cette diminution de la concentration d'oxygène dissous peut stimuler la libération de quantités significatives de fer (Fe^{2+}), le relargage du P et/ou la réduction des sulfates en sulfures (S^{2-}). La majorité des cyanobactéries qui forment des efflorescences sont tolérantes aux conditions anoxiques et à la présence de sulfures, elles peuvent donc migrer librement dans l'hypolimnion riche en nutriments afin de constituer des réserves. Ces phénomènes exercent un effet positif sur les cyanobactéries qui peuvent migrer dans la colonne d'eau et les rendent très compétitives (Paerl et Fulton 2006, Paerl et Huisman 2008).

Énergie lumineuse

Les cyanobactéries peuvent capter la lumière à une plus faible intensité que le phytoplancton eucaryote en général, grâce à leur pigmentation diversifiée (présentée plus haut), mais les besoins en lumière peuvent différer selon les espèces. Les cyanobactéries qui sont efficaces en présence d'une faible intensité lumineuse, comme *Planktothrix*, peuvent dominer les communautés de phytoplancton dans les lacs eutrophes (Mur *et al.* 1977, Huisman et Hulot 2005) et, dans les lacs où les nutriments sont limitants dans les eaux de surface, peuvent former des accumulations denses dans le métalimnion (Reynolds *et al.* 2002, Pannard *et al.* 2011). Les cyanobactéries ayant la capacité de réguler leur position dans la colonne d'eau, comme *Aphanizomenon* et *Microcystis*, peuvent satisfaire leurs besoins en énergie lumineuse en flottant dans la couche d'eau où la luminosité est optimale. Dans les lacs eutrophes avec des concentrations élevées de phosphore et d'azote, la disponibilité de la lumière peut limiter la croissance des cyanobactéries, tel qu'observé chez *Anabaena flos-aquae*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Gomphosphaeria naegeliana* et *Oscillatoria* spp. (Ibelings et Maberly 1998, Huisman et Hulot 2005).

Carbone inorganique

La concentration en carbone inorganique dissous (CID) peut également devenir limitante pour la croissance dans les écosystèmes eutrophes où les cyanobactéries forment des efflorescences denses (Klemer *et al.* 1995, Ibelings et Maberly 1998). Sous des conditions limitées en CID, les cyanobactéries qui sont avantagées par leur capacité à réguler leur flottaison peuvent accéder au CO_2 atmosphérique parallèlement à l'énergie lumineuse disponible près de la surface de l'eau (Oliver et Ganf 2000). Les cyanobactéries peuvent également utiliser le bicarbonate (HCO_3^-) comme source de carbone inorganique, ce qui leur confère un avantage en comparaison du phytoplancton eucaryote lorsque le pH est élevé et que la disponibilité du CO_2 est faible (Pick et Lean 1987, Oliver et Ganf 2000).

Nutriments

Phosphore

Parmi les macronutriments nécessaires à la croissance du phytoplancton, le phosphore (P) et l'azote (N) sont souvent des facteurs limitants (Schindler 1974, Sterner 1994). Les cyanobactéries sont généralement de piètres compétitrices pour le P comparativement aux diatomées, prochlorophytes et algues vertes (Tilman *et al.* 1986, de Nobel *et al.* 1997). Dans les eaux oligotrophes où le P est un facteur limitant majeur, les cyanobactéries dominent rarement la communauté de phytoplancton (Duarte et Canfield 1992, Downing *et al.* 2001). Pourtant, certaines exceptions à cette généralisation sont connues, en particulier les picocyanobactéries *Synechococcus* et *Synechocystis* qui sont des compétitrices efficaces pour le P (Moutin *et al.* 2002). La cyanobactérie *Microcystis* est moins efficace dans les eaux oligotrophes et les lacs qui ont un court temps de résidence car elle a une faible affinité pour le P (Visser *et al.* 2005). Shen et Song (2007) ont observé que les formes coloniales de *Microcystis* ont plus d'affinité pour le P que la forme unicellulaire, ce qui peut constituer un avantage pour la dominance et la persistance dans les conditions changeantes de P (Wu et Song 2008). Certains genres de cyanobactéries comme *Anabaena* et *Aphanizomenon* sont de forts compétiteurs pour le P lié à la matière organique (Huisman et Hulot 2005). Ces genres de cyanobactéries produisent la phosphatase alcaline, qui libère les phosphates liés à des composés organiques (Dignum *et al.* 2004). Certaines cyanobactéries peuvent constituer des réserves de P sous forme de granules de polyphosphates (Sommer 1985). La capacité à migrer en profondeur vers les zones riches en nutriments combinée à la capacité d'entreposer des nutriments fournissent un avantage compétitif en comparaison du phytoplancton non mobile, permettant aux cyanobactéries de croître lorsque les nutriments sont limités dans l'environnement. Lorsque les sources internes de P sont significativement élevées dans les plans d'eau, l'effet de limiter l'arrivée de nouvelles sources peut être minimal et l'amélioration de la qualité de l'écosystème peut prendre plusieurs années avant de survenir (Oliver et Ganf 2000).

Azote

Le type de source d'azote disponible dans l'environnement peut influencer le succès des différentes espèces de phytoplancton et de cyanobactéries. Il a été proposé que le phytoplancton eucaryote est favorisé par la disponibilité du nitrate (NO_3^-), que la disponibilité de l'ammonium (NH_4^+) favorise les cyanobactéries tandis que les genres de cyanobactéries pouvant fixer l'azote gazeux (N_2) sont surtout influencées par leur capacité à accéder à cet élément (Oliver et Ganf 2000). Les cyanobactéries peuvent entreposer l'azote lorsque ce nutriment est en excès dans l'environnement, par exemple en zone anoxique lorsque la décomposition de la matière organique entraîne une augmentation de NH_4^+ . Les réserves

d'azote peuvent prendre la forme de granules de cyanophycine, un copolymère d'aspartate et d'arginine (Tandeau de Marsac et Houmard 1993). Tel que précisé à la section 2.1, les pigments PBP peuvent être mobilisés lorsque la croissance est limitée par l'azote. Ce nutriment est important pour les cyanobactéries ayant des vacuoles de gaz car il est essentiel pour leur synthèse. Conséquemment, une carence en N peut inhiber la flottaison en plus de limiter la croissance et peut s'avérer un facteur important menant au déclin des populations de cyanobactéries qui ne peuvent fixer l'azote atmosphérique (Oliver et Ganf 2000).

Ratio N: P

Les plans d'eau caractérisés par un faible rapport de charge N: P sont davantage susceptibles d'être dominés par des cyanobactéries (N: P < 29; Smith 1983), en particulier par les genres qui peuvent fixer l'azote atmosphérique (N: P < 10; Flett *et al.* 1980, Schindler 1977). Ces résultats sont importants pour la gestion de l'eau car le ratio N: P peut être contrôlé dans plusieurs plans d'eau par l'élimination des sources externes de P, notamment par l'élimination de l'écoulement depuis les égouts, ou encore par un ajout artificiel d'azote tel que suggéré par Flett *et al.* (1980). Toutefois, l'ajout artificiel d'azote dans un écosystème comme outil de gestion des épisodes d'efflorescences de cyanobactéries est une stratégie controversée (Huisman et Hulot 2005). Par ailleurs, la valeur prédictive du rapport de charge N: P n'est pas toujours validée et l'augmentation de la charge de chacun des nutriments peuvent être de meilleurs indices de la dominance des cyanobactéries (Trimbee et Prepas 1987, Downing *et al.* 2001).

Métaux traces

Les cyanobactéries requièrent divers métaux à l'état de trace pour assurer le maintien de leur métabolisme et leur croissance. Le fer est essentiel pour la croissance des cyanobactéries car il agit comme cofacteur enzymatique impliqué dans la photosynthèse, le transport des électrons, le transfert d'énergie, l'assimilation des nitrites et nitrates et la fixation de N₂ (Paerl et Fulton 2006). Une limitation de la croissance des cyanobactéries par le fer a été observée dans les écosystèmes d'eau douce (Paerl 1990) et marins (de Baar *et al.* 1995). Les cyanobactéries peuvent produire des sidérophores qui permettent de solubiliser et séquestrer les ions fer lorsque les concentrations dans le milieu sont faibles, ce qui fournit un avantage compétitif par rapport au phytoplancton eucaryote (Paerl et Fulton 2006). Tel que précisé plus haut, les PBP peuvent être dégradés lorsque les cyanobactéries sont limitées en fer (Straus 1994). Le développement des cyanobactéries peut être limité par la disponibilité du cadmium, cobalt, manganèse et zinc, qui sont nécessaires à la photosynthèse, la fixation d'azote et la synthèse d'enzymes (Coale 1991, Lee *et al.* 1995). De plus, le molybdène peut agir comme cofacteur de l'enzyme nitrogénase responsable de la fixation d'azote (Paerl et Fulton 2006).

Turbulence

Les processus physiques de brassage exercent un impact important sur la dynamique des communautés de phytoplancton (Hutchinson 1967, Reynolds 1987). La turbulence induite par le vent peut influencer le déplacement de la thermocline, la circulation de Langmuir et les phénomènes d'ondes internes (Hansson et Brönmark 2005). Pendant les périodes où la colonne d'eau est stratifiée, les ondes internes favorisent le transfert de nutriments de l'hypolimnion vers l'épilimnion (MacIntyre et Jellison 2001, Bormans *et al.* 2004) et ainsi influencer la disponibilité des ressources (Beisner 2001, Pannard *et al.* 2008, Pannard *et al.* 2011). Le vent peut entraîner le mouvement des masses d'eau et le déplacement des cyanobactéries sur plusieurs kilomètres dans les grands lacs. Les cyanobactéries subissent également un déplacement aléatoire associé à la diffusion turbulente. Les avantages de la capacité de flottaison sont étroitement liés à la nature du régime de brassage. Lorsque la turbulence de l'eau atteint une vitesse quinze fois supérieure à la vitesse de migration des cyanobactéries vers la surface, la population est théoriquement distribuée de façon homogène dans la colonne d'eau. Sous des conditions de brassage associées à la turbulence, *Microcystis* est généralement bien distribuée à travers toute la colonne d'eau (Paerl et Fulton 2006). En présence de vent ou de courants forts, la structure thermique de la colonne d'eau est déstabilisée et les cyanobactéries qui peuvent flotter perdent leur avantage compétitif. Si ces conditions persistent, leur biomasse peut diminuer rapidement. Par ailleurs, les périodes de brassage intermittentes favorisent les cyanobactéries qui peuvent flotter car elles peuvent bénéficier des nutriments disponibles en profondeur pendant le brassage et migrer rapidement vers la surface illuminée lorsque la stabilité de la colonne d'eau augmente (Ibelings *et al.* 1991, Paerl et Fulton 2006).

Température

Les cyanobactéries croissent de façon optimale à des températures plus élevées (entre 25 et 35 °C) que d'autres groupes de phytoplancton tels que les chlorophycées et les diatomées (Reynolds et Walsby 1975). Une augmentation de la température de l'eau peut favoriser la formation des efflorescences de *Microcystis* par le biais de différents mécanismes, incluant une augmentation du taux de croissance (Visser *et al.* 2005). Des efflorescences de cyanobactéries ont toutefois été signalées en conditions de basses températures de l'eau, au début de la saison estivale, à la fin de l'automne ou encore sous un couvert de glace (Phillips et Fawley 2002). La sensibilité aux basses températures varie selon les genres des cyanobactéries. Par exemple, le genre *Microcystis* est moins tolérant aux basses températures que le genre *Oscillatoria* (Robarts et Zohary 1987).

Effets des changements climatiques sur les efflorescences de cyanobactéries

Selon le Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (IPCC 2007), le réchauffement du système climatique global est sans équivoque: les températures ont augmenté presque partout dans le monde et de façon plus marquée aux latitudes élevées de l'hémisphère nord. Alors que la tendance linéaire au réchauffement a été estimée à 0.6 [0.4-0.8] °C pour la période entre 1901 et 2000 (Houghton *et al.* 2001), la valeur établie pour 1906-2005 est plus élevée et atteint 0.74 [0.56-0.92] °C (IPCC 2007). Les conséquences du réchauffement climatique sont nombreuses. Des changements dans les patrons d'ensoleillement, la durée du couvert de neige et de glace, les régimes de vents et les précipitations ont été observés (Houghton *et al.* 2001). Les précipitations ont fortement augmenté dans plusieurs régions, dont l'est de l'Amérique du Nord (IPCC 2007). De plus, les crues de printemps hâtives, le réchauffement des plans d'eau et la hausse de la charge en nutriments associée à l'intensification du ruissellement perturbent les systèmes hydrologiques et entraînent une diminution de leur qualité (Visser *et al.* 2005, IPCC 2007). Bien que certaines incertitudes demeurent dans les scénarios climatiques et limitent la justesse des impacts attendus sur la stabilité de la colonne d'eau et le développement des efflorescences de cyanobactéries dans les différentes régions du monde, le réchauffement climatique exerce une influence sur plusieurs facteurs qui contrôlent la croissance des cyanobactéries (Visser *et al.* 2005, Paerl et Huisman 2009). Par exemple, la hausse de la température de l'air, de faibles vents ainsi qu'une fréquence plus élevée des conditions d'ensoleillement pourraient mener à une augmentation de la stratification thermique et de la stabilité de la colonne d'eau ainsi qu'à des périodes plus longues pendant lesquelles les conditions de croissance sont optimales, ce qui favorise le développement des efflorescences de cyanobactéries (Huisman et Hulot 2005, Paerl et Huisman 2009). Par ailleurs, l'augmentation du couvert nuageux et de la vitesse du vent pourrait limiter la disponibilité de l'énergie lumineuse et diminuer la stabilité de la colonne d'eau et donc réduire la productivité des cyanobactéries, mais les courtes périodes de forte irradiance et de température élevée de l'eau devraient favoriser l'apparition d'épisodes d'efflorescences plus courts et plus intenses (Howard et Easthope 2002). Des variations dans les patrons climatiques saisonniers et interannuels, en particulier les événements extrêmes comme les sécheresses, les tempêtes et les inondations, sont également des facteurs qui favorisent le développement d'efflorescences de cyanobactéries (Paerl et Huisman 2009).

2.3 Dynamique des communautés lacustres de phytoplancton et de cyanobactéries

Recrutement printanier des cyanobactéries dans les écosystèmes lacustres

Afin de résister aux conditions défavorables, certains genres de cyanobactéries ont la capacité de former des cellules végétatives modifiées ou des akinètes (des cellules de résistance de plus grande taille, aux parois épaisses et enrichies en polyglucanes), qui constituent un inoculum pour la saison de croissance suivante. Les akinètes sont produites par des cyanobactéries de l'ordre des Nostocales, comme *Anabaena* et *Aphanizomenon* (Komarek et Anagnostidis 1989). D'autres cyanobactéries hivernent dans les sédiments sous la forme de cellules végétatives, par exemple le genre *Microcystis* (Reynolds *et al.* 1981, Brunberg et Böstrom 1992). Le recrutement des cyanobactéries peut être défini comme la migration verticale des cellules végétatives ou des akinètes depuis l'interface eau-sédiment vers la colonne d'eau (Jourdain 2010). La quantité de colonies de cyanobactéries qui participent au recrutement printanier est influencée par plusieurs facteurs tels que l'abondance de cellules végétatives ou d'akinètes accumulées dans les sédiments, leur taux de survie et l'apparition de conditions favorables à l'initiation de la phase de recrutement (Brunberg et Blomqvist 2002). Le recrutement peut être d'origine active, en fonction de la disponibilité des ressources (lumière, température, nutriments) et des variations de la flottabilité des cellules, ou d'origine passive en présence de turbulence ou de bioturbation (voir Jourdain 2010). Le recrutement peut être plus important dans les zones littorales peu profondes où l'intensité lumineuse qui atteint les sédiments est plus grande, les variations de température plus importantes et où le brassage des sédiments survient à une plus grande échelle (Brunberg et Blomqvist 2003, Rengefors *et al.* 2004, Visser *et al.* 2005). Par exemple, l'étude de Jourdain (2010) a observé un recrutement plus important d'akinètes du genre *Anabaena* et un recrutement plus hâtif du genre *Aphanizomenon* en zone littorale. La pénétration de l'énergie lumineuse dans la colonne d'eau jusqu'aux sédiments peut favoriser le recrutement car la formation des vacuoles de gaz nécessite l'acquisition d'énergie (Deacon et Walsby 1990, Reynolds et Bellinger 1992). Lorsque la température est assez élevée pour soutenir la synthèse de protéines de façon régulière, les colonies benthiques de *Microcystis* retrouvent leur capacité à flotter et se maintenir dans la colonne d'eau, elles croissent puis rétablissent ensuite une population planctonique (Hansson 1993, Forsell 1998). De faibles concentrations d'oxygène près des sédiments peuvent augmenter le recrutement des cyanobactéries (Reynolds *et al.* 1981, Trimbee et Harris 1984). Il a également été suggéré que le recrutement soit une réponse à la diminution progressive de l'effet de lest associé la consommation des réserves d'hydrates de carbone (Visser *et al.* 2005). Par ailleurs, des colonies ayant retrouvé leur capacité à flotter peuvent être retenues dans les sédiments après y avoir été enfouies pendant la période hivernale (Visser *et al.* 2005). Le recrutement des cyanobactéries peut donc être davantage

associé à une resuspension dans la colonne d'eau, après un brassage généré par le vent ou la bioturbation des sédiments, plutôt qu'à des changements de la capacité de flottaison des populations benthiques (Stahl-Delbanco et Hansson 2002, Verspagen *et al.* 2004). Les akinètes peuvent survivre jusqu'à plusieurs années dans les sédiments en consommant leurs réserves d'hydrates de carbone, par respiration ou fermentation (Mur *et al.* 1999, Oliver et Ganf 2000).

Patron de succession du phytoplancton et des cyanobactéries dans les écosystèmes lacustres

Un portrait général de la succession des populations de phytoplancton en conditions naturelles dans les lacs profonds situés en zone tempérée a été formulé (Reynolds 1984b, Oliver et Ganf 2000). La communauté de phytoplancton est généralement dominée par le groupe des bacillariophycées au printemps, puis par le groupe des algues vertes ou des chrysophycées lorsque s'établit la stratification de la colonne d'eau, les cyanobactéries et les dinoflagellés étant abondants pendant la saison estivale. Les cyanobactéries atteignent généralement une dominance lorsque la colonne d'eau est stratifiée et que, dans l'épilimnion, la disponibilité des nutriments est plus faible (Reynolds 1984b). Le taux de croissance plus lent des cyanobactéries en comparaison du phytoplancton eucaryote est compensé par la forte prévalence des populations lorsqu'elles sont bien établies. Les taux de pertes des populations de cyanobactéries qui forment des efflorescences sont généralement faibles, grâce entre autres à leur capacité à éviter la sédimentation par le biais de la flottaison et au faible taux de prédation (Vincent 1989). Dans plusieurs écosystèmes lacustres situés en zone tempérée, des populations abondantes de *Microcystis* peuvent persister pendant l'été puis disparaître en automne lorsque les colonies sédimentent vers le fond du lac (Visser *et al.* 2005). La sédimentation automnale a été associée à l'augmentation de l'effet de lest dans les cellules (Reynolds et Rogers 1976, Reynolds *et al.* 1981, Visser *et al.* 2005) ainsi qu'à une co-précipitation des colonies avec des particules en suspension telles que des précipités d'oxyde de fer ou des particules d'argile (Oliver *et al.* 1985, Visser *et al.* 2005). Lorsque la thermocline s'érode, un second pic de croissance peut être observé chez les bacillariophycées, puis les populations de phytoplancton déclinent pendant la saison hivernale. Le patron de succession de la communauté de phytoplancton dans un plan d'eau peut être fortement modulé par des événements climatiques extrêmes comme les tempêtes, qui peuvent réinitialiser la séquence de succession ou éliminer une étape (Oliver et Ganf 2000). Dans les écosystèmes aquatiques en zones tropicales, les cyanobactéries peuvent former des efflorescences et des écumes pendant toute l'année si les conditions climatiques et la disponibilité de la lumière et des nutriments demeurent relativement stables. La structure de la communauté de phytoplancton dans ces écosystèmes tropicaux est surtout affectée par des changements météorologiques et hydrographiques saisonniers (voir Oliver et Ganf 2000).

2.4 Évaluation du risque associé aux cyanobactéries qui forment des efflorescences

En plus des connaissances nécessaires sur les facteurs qui gouvernent la dynamique des cyanobactéries dans un plan d'eau, le succès des stratégies de gestion des épisodes d'efflorescences repose sur la détection rapide des cellules à potentiel toxique et sur le dosage des cyanotoxines. Ces deux aspects sont complémentaires car les populations naturelles de cyanobactéries ne synthétisent pas des toxines en tout temps et, à l'opposé, une concentration élevée de toxines peut survenir malgré une faible densité de cellules (Sivonen et Jones 1999).

Seuils décisionnels pour l'évaluation du risque

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et plusieurs pays ont établi des seuils décisionnels pour le suivi des cyanotoxines dans l'eau. Un seuil de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ a été proposé pour l'hépatotoxine MC-LR dans l'eau potable (OMS 1998) tandis qu'une concentration de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de MC est suggérée comme seuil de contact lors d'activités récréatives (OMS 2003). Des seuils pour les saxitoxines, les anatoxines et cylindrospermopsines ont également été établis pour l'eau potable (voir Hoeger *et al.* 2005). En raison des coûts élevés reliés aux analyses et de l'absence de standards de calibration pour l'ensemble des types de cyanotoxines, l'utilisation de seuils basés sur la concentration des cyanotoxines pour suivre le risque sanitaire a été remis en question (Chorus 2005). En effet, la détection d'un ou deux type de toxines ne permet pas d'évaluer le risque associé à l'ensemble des cyanotoxines. Par ailleurs, les effets néfastes des cyanobactéries sur la santé peuvent être davantage reliés à la densité cellulaire et à la période d'exposition qu'à la concentration des cyanotoxines (Pilotto *et al.* 1997).

L'utilisation de seuils décisionnels basés sur la densité des cellules de la cyanobactérie *Microcystis* a été retenue par l'OMS comme approche davantage appropriée pour faire le suivi de la qualité des eaux récréatives et de consommation (Chorus 2005). Certains auteurs recommandent d'augmenter la vigilance dès que la densité des cellules atteint $500 \text{ cellules ml}^{-1}$ (Tableau 1.2). Au Québec, le ministère du Développement durable, Environnement et Parcs (MDDEP) considère qu'un plan d'eau est «touché» par une fleur d'eau de cyanobactérie lorsque la densité des cellules atteint $20\,000 \text{ cellules ml}^{-1}$ (MDDEP 2010). Des seuils basés sur la biomasse totale (Chl-a) ont également été développés, selon le ratio de $100\,000 \text{ cellules ml}^{-1}$ de *Microcystis* pour $50 \mu\text{g Chl-a L}^{-1}$ (Chorus et Bartram 1999). Toutefois, une évaluation réalisée à partir de seuils de biomasse totale doit tenir compte du fait que le ratio de biomasse totale (Chl-a) par unité de cellule varie selon les espèces de cyanobactéries et les stades de développement d'une même espèce (Chorus 2005). Les plans d'eau touchés par d'importantes accumulations de cyanobactéries sont souvent fermés aux activités récréatives et ne peuvent être utilisés pour des besoins agricoles ou comme source d'eau potable (Huisman *et al.* 2005).

Tableau 1.2. Exemples de seuils décisionnels pour l'évaluation du risque associé aux cyanobactéries. Cette liste n'est pas exhaustive, elle est conçue à titre indicatif.

Densité (cellules ml ⁻¹)	Biomasse* (µg Chl-a L ⁻¹)	Actions à entreprendre en fonction du risque associé	Référence
500	0.25	Augmenter la fréquence d'échantillonnage. Échantillonner à une fréquence bi-mensuelle. Niveau 1 «Prudence» en Corée du Sud.	Carmichael 2001 Watzin <i>et al.</i> 2006 Ahn <i>et al.</i> 2007
2 000	1.00	Doser les cyanotoxines. Alerte de niveau 1 selon l'OMS.	Chorus et Bartram 1999
4 000	2.00	Échantillonner à une fréquence hebdomadaire.	Chorus et Bartram 1999
5 000	2.50	Niveau 2 «Alerte» en Corée du Sud	Ahn <i>et al.</i> 2007
10 000	5.00	Protéger et suivre la qualité de l'eau brute à l'entrée de l'usine de traitement de l'eau potable. Mettre en place des traitements pour éliminer les cellules et les toxines dans l'eau brute. Seuil proposé par le Service municipal des eaux du Québec.	Ellis 2008
15 000	7.50	Émettre un avis de non-consommation en absence de traitement adéquat.	Carmichael 2001
20 000	10.00	Densité cellulaire néfaste pour la santé (limite inférieure). Éviter la baignade. Plan d'eau «touché» par une fleur d'eau. Seuil utilisé au Québec.	Oliver et Ganf 2000 OMS 1998 MDDEP 2010
100 000	50.00	Utiliser une source d'eau potable alternative. Interdire la baignade. Échantillonner à une fréquence journalière. Alerte de niveau 2 selon l'OMS.	Chorus et Bartram 1999
1 000 000	500.00	Niveau 2 «Épidémie» en Corée du Sud	Ahn <i>et al.</i> 2007

* Valeur estimée à partir du ratio 100 000 cellules ml⁻¹ pour 50 µg Chl-a L⁻¹ en condition de dominance par la cyanobactérie *Microcystis*, donné dans Chorus et Bartram (1999).

Identification des espèces de cyanobactéries, quantification des cellules et de la biomasse totale

Le suivi de la composition spécifique et de la densité des différents taxons de cyanobactéries est généralement réalisé par microscopie selon la méthode développée par Utermöhl (1958). Bien que cette méthode conventionnelle de dénombrement des cellules soit précise, l'analyse floristique est longue à réaliser et est fortement dépendante de l'expertise de l'analyste. De plus,

cette méthode peut impliquer des erreurs substantielles en présence de colonies de grande taille ou de longs filaments entremêlés. Comme la densité des cyanobactéries à la surface d'un plan d'eau peut varier rapidement si les effets de la capacité à migrer verticalement dans la colonne d'eau et l'action du vent sont combinés, faire le suivi des cyanobactéries par microscopie dans une grande quantité de plans d'eau s'avère à la fois laborieux et coûteux. L'utilisation de la microscopie ne permet pas de détecter les cyanobactéries qui forment des efflorescences assez rapidement, et ainsi l'application de mesures appropriées pour gérer le risque peut survenir tardivement. Une méthode plus simple que le décompte des cellules par microscopie est nécessaire afin d'améliorer les programmes de suivi conventionnels, rendre les systèmes d'alerte fonctionnels et établir un diagnostic en temps quasi réel. La méthode de détection retenue pour faire le suivi des cyanobactéries dans un plan d'eau doit permettre d'analyser rapidement leur distribution horizontale dans les zones géographiques à risque et leur distribution verticale dans la colonne d'eau.

Par ailleurs, le suivi du risque associé aux cyanobactéries à l'aide de seuils décisionnels basés sur le dosage de la biomasse totale (Chl-a extraite et dosée par spectrofluorimétrie, selon Sartory et Grobbelaar 1984) ne permet pas de suivre efficacement les cyanobactéries lorsque d'autres groupes de phytoplancton contribuent à la biomasse des communautés phytoplanctoniques, selon les caractéristiques propres à l'écosystème et la saison d'étude. Par exemple, des efflorescences d'algues vertes (*Botryococcus braunii*) et de flagellés (*Euglena*) peuvent survenir (Oliver et Ganf 2000).

2.5 Suivi des cyanobactéries à partir de la fluorescence *in vivo* (FIV)

La détection de la fluorescence *in vivo* (FIV) des cyanobactéries est recommandée par plusieurs spécialistes pour une analyse routinière des milieux aquatiques à risque. La détection des propriétés bio-optiques du phytoplancton, *in vivo* (dans les cellules vivantes), est un outil efficace pour suivre à une fréquence élevée les communautés de phytoplancton (Seppälä et Balode 1998). L'intensité du signal de FIV émis par la Chl-a des cellules phytoplanctoniques a été largement utilisée, dès 1966, pour estimer la biomasse totale du phytoplancton et pour caractériser le profil de leur distribution dans la colonne d'eau. L'étude de Lorenzen (1966) a été réalisée à partir d'eau pompée puis analysée à l'aide d'un fluorimètre à bord d'un bateau, mais le développement de fluorimètres submersibles a par la suite permis de détecter la FIV directement dans les plans d'eau. Différentes technologies fluorimétriques ont été développées pour suivre les efflorescences de phytoplancton en temps réel, dont les profileurs de FIV, les bouées équipées de fluorimètre et la télédétection. Ces techniques sont devenues des outils fondamentaux pour la recherche en sciences de l'eau (pour une revue de la littérature, voir Huot

et Babin 2011) et elles sont déjà utilisées comme méthodes complémentaires à la microscopie par certains intervenants de la gestion de l'eau. La fluorescence *in vivo* est un indicateur semi-quantitatif de la concentration de la Chl-a dans l'eau et les profils de fluorescence détectés sont généralement calibrés à partir du dosage des pigments selon une méthode de référence (Seppälä et Balode 1998). La détection de la FIV de la Chl-a, à l'instar du dosage par spectrofluorimétrie de la Chl-a extraite (Sartory et Grobbelaar 1984), ne peut être utilisée pour suivre les cyanobactéries que si ces dernières dominent la communauté de phytoplancton. Le développement de méthodes qui permettent de détecter les populations de cyanobactéries dès le début de leur croissance, lorsque la population ne domine pas la communauté de phytoplancton, est donc un enjeu important (Ziegmann *et al.* 2010). Afin d'améliorer les systèmes d'alertes, Ahn *et al.* (2007) recommandent d'utiliser des seuils décisionnels basés sur des caractères spécifiques aux cyanobactéries.

Distinction de la FIV des groupes spectraux de phytoplancton

À la suite du développement de fluorimètres permettant de détecter la FIV émise par la Chl-a, plusieurs études ont été réalisées avec des fluorimètres multi-spectraux afin de distinguer les différents groupes de phytoplancton et les cyanobactéries et estimer leur abondance relative à partir du spectre d'excitation et d'émission de fluorescence de leurs pigments respectifs (par ex. Yentsch et Yentsch 1979, Vincent 1983, Yentsch et Phinney 1985, Poryvkina *et al.* 1994, Gerhardt et Balode 1998, Babichenko *et al.* 2000, Millie *et al.* 2002, Beutler *et al.* 2002, 2003, Bodemer 2004, Seppälä *et al.* 2007, Brient *et al.* 2008, Seppälä et Olli 2008).

Plusieurs groupes spectraux de phytoplancton peuvent être distingués selon l'analyse de leur composition pigmentaire (tableau 1.3; van den Hoek *et al.* 1995, Beutler *et al.* 1998). Par exemple, dans le groupe spectral bleu, les organismes phytoplanctoniques possèdent un photosystème dont l'antenne périphérique est composée des pigments APC et PC (voir section 2.1). La fluorescence émise par les phycobiliprotéines permet de distinguer efficacement les cyanobactéries des groupes de phytoplancton dont le principal pigment responsable de l'absorption et de la fluorescence est la Chl-a. Par contre, les cryptophycées peuvent présenter un spectre de FIV semblable à celui des cyanobactéries, limitant ainsi la distinction de ces deux groupes à partir de leur fluorescence. Les cryptophycées forment un groupe de phytoplancton eucaryote de couleur généralement rose à brun, en raison de leurs pigments PE, et peuvent prendre une coloration bleu-vert chez certaines souches qui possèdent surtout le pigment PC (Jeffrey et Vesk 1997, MacIntyre *et al.* 2011).

Tableau 1.3 Groupes spectraux de phytoplancton (adapté de Beutler *et al.* 1998, Jeffrey et Vesk 1997).

Groupes spectraux	Composition de l'antenne périphérique du photosystème	Divisions de phytoplancton
Bleu	APC, PC	Cyanobactéries Glaucophycées
Rouge	APC, PC, PE	Cyanobactéries rouges Algues rouges
«Mixte»	Chl-a, Chl-c, PC, PE	Cryptophycées
Vert	Chl-a, Chl-b, caroténoïdes	Algues vertes
Brun	Chl-a, Chl-c, caroténoïdes	Heterokontophycées Haptophycées Dinophycées

Les PBP, qui sont les principaux pigments capteurs d'énergie lumineuse chez les cyanobactéries, absorbent la lumière des spectres verts, jaunes, oranges et rouges (spectre d'excitation vers 550 et 630 nm) puis une partie de l'énergie captée est réémise sous forme de lumière fluorescente vers 650 nm (Schubert *et al.* 1989). La PC capte surtout la lumière orange et rouge, entre 590 et 630 nm (absorption maximale à 620 nm), puis l'énergie lumineuse est réémise entre 640 et 660 nm (émission maximale vers 650 nm, Gregor et Marsalek 2005, Gregor *et al.* 2007). Les pigments chlorophylliens et caroténoïdes sont pour leur part surtout excités par la lumière bleue (vers 430 à 530 nm) et rouge (620 à 700 nm, Vincent 1983, Gregor *et al.* 2005). L'excitation maximale de la Chl-a est atteinte vers 440 nm et la fluorescence est émise vers 685 nm (Gregor *et al.* 2007). La lumière bleue n'excite pas efficacement les cyanobactéries car, chez ces procaryotes, la Chl-a est située dans le PSI (Heaney 1978).

Détection de la FIV des groupes spectraux de phytoplancton

Le développement de fluorimètres possédant d'autres canaux d'excitation/détection que celui utilisé pour la détection de la FIV de la Chl-a a permis d'estimer l'abondance de différents groupes spectraux de phytoplancton à partir de l'intensité de leur spectre de FIV spécifique. Certains fluorimètres sont conçus avec un seul canal d'excitation/détection et estiment la biomasse des cyanobactéries en unité de PC ($\mu\text{g PC L}^{-1}$; par ex. TriOS microFlu-blue: excitation à 620 nm et détection de la FIV émise vers 655 nm, Brient *et al.* 2008). Toutefois, il n'existe pas de standard pur pour le pigment PC et aucun seuil décisionnel n'a été officiellement formulé pour cet indice. Les fluorimètres qui fournissent des estimés en unité de PC ($\mu\text{g PC L}^{-1}$) ou en

unité relative de fluorescence (urf) sont donc des outils qualitatifs, à moins qu'une calibration *a posteriori* soit effectuée par l'utilisateur entre les urf et la densité des cellules de cyanobactéries pour un lac et une période donnée. D'autres types de fluorimètres sont munis de deux canaux d'excitation/détection conçus pour détecter de façon indépendante la biomasse totale du phytoplancton et la biomasse du groupe spectral bleu (par ex. Chl-a: excitation à 440 nm et détection de la FIV émise à 680 nm, PC: excitation à 620 nm et détection de la FIV émise à 645 nm; Lee *et al.* 1995, Ahn *et al.* 2007). Ce type de fluorimètre (par ex. le YSI-6600V2 muni des capteurs 6131 et 6025) estime la densité des cellules de cyanobactéries à partir de la FIV de la PC, en fonction d'une calibration basée sur la FIV d'une souche unicellulaire ayant un biovolume connu (par ex. en cellules ml^{-1} ayant un biovolume équivalent à celui d'une souche de *Microcystis* utilisée pour la calibration), en plus d'estimer la biomasse totale du phytoplancton à partir de la FIV de la Chl-a ($\mu\text{g Chl-a L}^{-1}$). Beutler *et al.* (2002) ont développé un type de fluorimètre qui détecte l'intensité et la signature spectrale de la FIV émise par la Chl-a après une excitation séquentielle des pigments, impliquant jusqu'à sept longueurs d'ondes d'excitation (par ex. excitation à 370, 430, 470, 525, 570, 590, 610 nm et détection de la FIV émise à 680-690 nm, Fluoroprobe de BBE Moldaenke). Ce type de fluorimètre estime la biomasse totale, en unité de Chl-a ($\mu\text{g Chl-a L}^{-1}$), de chacun des quatre groupes spectraux à partir de leur spectre de FIV spécifique, selon la calibration développée par le fabricant (voir Beutler *et al.* 2002, 2003, 2004).

Les détecteurs de FIV permettent d'effectuer une estimation sensible (présentant généralement une limite de détection $< 1 \mu\text{g Chl-a L}^{-1}$; MacIntyre *et al.* 2011), et rapide ($<$ d'une minute) des cyanobactéries, mais les valeurs estimées sont généralement données dans une unité équivalente aux caractéristiques des espèces de référence utilisées pour la calibration par le fabricant. Le signal de FIV détecté par un fluorimètre doit donc être validé ou calibré *a posteriori* à partir d'une méthode conventionnelle de dénombrement des cellules de cyanobactéries telle que la microscopie, puis devrait être converti en biovolume (ou biomasse fraîche, $\mu\text{m}^3 \text{ml}^{-1}$) en intégrant des informations sur la morphométrie des espèces identifiées et en assumant une densité spécifique de 1 (Ahn *et al.* 2007).

L'intensité du signal de FIV détecté est influencée par plusieurs facteurs, dont certains sont reliés à l'instrument, par exemple l'intensité et le type de source de lumière utilisée pour l'excitation, le type de canaux d'excitation/détection et la géométrie du détecteur de FIV (MacIntyre *et al.* 2011). De plus, le signal de FIV détecté dans le volume d'eau analysé peut varier en présence de matières qui absorbent et diffusent la lumière, par exemple l'eau elle-même, la matière organique dissoute colorée (MODC) et les particules en suspension (Suggett *et al.* 2011). Le signal de la MODC étant détecté par les fluorimètres, il doit être considéré dans l'analyse des résultats (« blanc » ou « bruit de fond » associés à la couleur de l'eau).

Les tentatives pour fournir une calibration « universelle » de la signature spectrale de la FIV des différents groupes de phytoplancton sont demeurées inefficaces (Poryvkina *et al.* 2000, MacIntyre *et al.* 2011). Les communautés naturelles de cyanobactéries présentent une grande variabilité de propriétés de fluorescence, de façon plus importante que chez les populations de phytoplancton eucaryote. La variation inter- et intra-spécifique des propriétés d'absorption de la lumière et du spectre de FIV est influencée par des facteurs génétiques et phénotypiques, par exemple la morphologie, la taille et la composition pigmentaire des cellules, par un effet d'empilement des pigments (*package effect*) ou par un effet de plafonnement (*self absorption*). Les propriétés d'absorption et d'émission de la FIV sont également influencées par la variation dans l'absorption de la lumière par le photosystème, par l'efficacité du transfert d'énergie dans le photosystème ainsi que par la variation du rendement de fluorescence (*effective quantum yield*) par rapport à la biomasse de la cellule (Bidigare *et al.* 1990, Seppälä et Balode 1998). Le rendement de fluorescence dépend de la proportion de l'énergie lumineuse captée par les pigments et dirigée entre les différentes voies métaboliques des cellules, en particulier pour la photosynthèse. L'intensité de la fluorescence émise peut également être affectée par les différents stades de croissance des cellules (Henrion *et al.* 1997). Par ailleurs, l'agrégation des cellules en colonies plus ou moins volumineuses peut affecter la détection de la fluorescence car la lumière d'excitation émise par un fluorimètre ne peut atteindre les cellules situées au centre des grandes colonies (contenant plusieurs milliers de cellules) et la fluorescence émise par les cellules peut être dispersée et réabsorbée, entraînant une sous-estimation de la biomasse (Asai *et al.* 2000, Wu et Song 2008). Enfin, tel que décrit précédemment, les facteurs environnementaux comme la disponibilité de l'énergie lumineuse et des nutriments influencent les propriétés de FIV des cellules phytoplanctoniques (Gregor *et al.* 2007).

Bien que ces facteurs puissent mener à une variation du signal de FIV, ils peuvent demeurer insuffisants pour limiter l'efficacité des fluorimètres pour faire le suivi des cyanobactéries (Asai *et al.* 2001, Gregor *et al.* 2005). Les appareils conçus pour détecter l'intensité et la signature spectrale de la FIV sont basés sur l'hypothèse que, en présence d'une source lumineuse ayant une intensité stable, la FIV détectée est proportionnelle à la Chl-a si les paramètres suivants sont constants: le coefficient d'absorption de la Chl-a, le rendement quantique de la fluorescence de la Chl-a, le spectre d'émission de la FIV et le facteur de réabsorption intracellulaire de la FIV (Huot et Babin 2011). Par exemple, le logiciel du fluorimètre BBE considère que le signal de FIV n'est pas influencé par l'état physiologique des cellules et que le ratio de PC à PSII demeure constant (Beutler *et al.* 2002, 2003). Étant donné que les propriétés de fluorescence ne sont généralement pas constantes, la détection de la FIV fournit des informations qualitatives sur la biomasse du phytoplancton (Huot et Babin 2011). Malgré les aspects négatifs associés à la variabilité de la FIV et à la nécessité d'une calibration *a posteriori*

pour convertir les valeurs qualitatives en estimés de cyanobactéries, l'utilisation d'un fluorimètre *in vivo* peut être utile pour acquérir des données en continu sans qu'une préparation des échantillons ne soit nécessaire, ce qui permet d'utiliser cette méthode pour obtenir une analyse rapide de l'ordre de grandeur de la densité des cyanobactéries dans un plan d'eau.

Suivi des épisodes d'efflorescences de cyanobactéries

La détection des cyanobactéries a été réalisée avec succès lors d'études menées à partir de détecteurs de FIV submersibles dans des réservoirs et des écosystèmes d'eau douce (par ex. Gregor et Marsalek 2005, Gregor *et al.* 2007, Brient *et al.* 2008) et en laboratoire (par ex. Ahn *et al.* 2007, Izydorczyk *et al.* 2009, Richardson *et al.* 2010). Brient *et al.* (2008) ont observé une forte corrélation entre la concentration de la PC détectée et la densité des cellules de cyanobactéries ($r = 0.74$, $P < 0.01$) dans une étude réalisée sur 35 plans d'eau eutrophes (France) dont 50% étaient dominés par les cyanobactéries et où aucun taxon de phytoplancton eucaryote possédant le pigment PC n'a été identifié. L'efficacité de la méthode développée par Beutler *et al.* (2002, 2003) a été démontrée dans une étude menée au lac Bourget (France), après une calibration de l'appareil à partir de la signature spectrale obtenue en condition de dominance (< 95 %) par la cyanobactérie *Planktothrix rubescens* (Leboulanger *et al.* 2002). Avec cette nouvelle calibration, les estimés de la biomasse totale de l'ensemble des groupes spectraux étaient corrélés à la Chl-a quantifiée à partir de l'analyse spectrofluorimétrique conventionnelle ($y = 1.0311x$, $r = 0.775$, $P < 0.01$) et les estimés de biomasse du groupe spectral bleu étaient corrélés à la densité des cellules de *P. rubescens* ($y = 6.54 * 10^{-4} x$, $r = 0.898$, $P < 0.01$; Leboulanger *et al.* 2002). D'autres études ont démontré l'utilité des fluorimètres pour suivre la biomasse des cyanobactéries *in situ*. Par exemple, les estimés de biomasse des cyanobactéries détectés dans un réservoir d'eau (République tchèque) à l'aide du fluorimètre BBE étaient corrélés à densité des cyanobactéries dénombrées par microscopie ($y = 7 * 10^{-5} x$, $r^2 = 0.86$; Gregor *et al.* 2005). L'étude de Gregor *et al.* (2007) a également montré que la FIV détectée par le fluorimètre BBE est confirmée par la FIV détectée par un fluorimètre de laboratoire (excitation à 590 nm et émission vers 680 nm). La fluorescence relative (urf) estimée à partir de ce fluorimètre de laboratoire est elle-même fortement corrélée à la densité mesurée par microscopie, entre 2000 et 70 000 cellules ml^{-1} ($r = 0.96$ pour les échantillons prélevés à 10 mètres, $r = 0.88$ pour les autres échantillons), et modérément corrélée lorsque la densité est inférieure à 2000 cellules ml^{-1} ($r = 0.67$). De plus, cette étude a montré que le rendement de fluorescence par unité de cellule était 50 % plus élevé aux profondeurs de 30 et 50 mètres qu'à 10 mètres sous la surface de l'eau, étant donné qu'à ces profondeurs, la photosynthèse est plus faible, laissant une plus grande proportion de l'énergie lumineuse à être réémise sous forme de fluorescence. Par ailleurs, comme les cyanobactéries ne captent pas efficacement la lumière

bleue, les fluorimètres qui détectent la FIV émise par Chl-a peuvent sous-estimer la biomasse du groupe spectral bleu (Gregor et Marsalek 2005, Gregor *et al.* 2005). Les auteurs recommandent de suivre la biomasse du phytoplancton eucaryote afin d'éviter la détection de résultats faux-positifs lorsque ces derniers sont abondants (Gregor *et al.* 2007).

L'efficacité des détecteurs de FIV pour suivre les cyanobactéries dans les plans d'eau n'est pas toujours vérifiée. La présence de PC chez d'autres groupes de phytoplancton dans le plan d'eau à l'étude peut entraver l'utilisation de la FIV de ce pigment pour estimer la biomasse des cyanobactéries, par exemple en présence de forte biomasse de cryptophycées. En effet, en plus d'être un pigment majeur chez les cyanobactéries, la PC est également un pigment majeur chez les cryptophycées (>10% des pigments totaux; Jeffrey et Mantoura 1997). Dans une étude menée au lac Ontario (Ontario et États-Unis), l'analyse fluorimétrique réalisée à partir d'un fluorimètre BBE n'était pas confirmée par l'analyse microscopique: la population de cryptophycées était surestimée et les cyanobactéries étaient sous-estimées malgré leur importance relative (Pemberton *et al.* 2007). Ce phénomène a également été observé en milieu marin, où les cryptomonades et les cyanobactéries possèdent des spectres d'émission similaires car elles possèdent toutes deux le pigment PE (Yentsch et Phinney 1985). Pour ces raisons, les analyses microscopiques doivent tenir compte de la contribution des cryptophycées à la communauté de phytoplancton. Par ailleurs, les picocyanobactéries possèdent également le pigment PC et peuvent donc interférer avec les mesures de biomasse des cyanobactéries qui forment des efflorescences nuisibles (Blaha et Marsalek 1999). En absence de phytoplancton possédant le pigment PC ou de picocyanobactéries de densités assez importantes pour interférer avec la détection des cyanobactéries qui forment des efflorescences, la détection de la PC par FIV peut être utilisée pour estimer *in situ* la biomasse des cyanobactéries séparément des autres groupes de phytoplancton.

3. Objectifs et hypothèses de recherche

3.1 Objectifs

Cette étude a comme objectifs: (i) d'évaluer, en conditions contrôlées, la performance de deux types de fluorimètres submersibles (le YSI et le BBE) pour estimer, à partir de la fluorescence *in vivo* (FIV), la densité ou la biomasse des souches unicellulaire et coloniale de *Microcystis* isolées dans le milieu naturel à l'étude, le lac Saint-Charles; (ii) de développer une méthode de calibration *a posteriori* des valeurs de FIV détectées *in situ*; (iii) d'établir les limites de détection et de quantification de la méthode.

(iv) Cette étude vise également à évaluer, en milieu naturel, la performance des deux fluorimètres (le YSI et le BBE) pour estimer rapidement la densité ou la biomasse des cyanobactéries *in situ* ainsi qu'à évaluer la méthode de calibration *a posteriori* développée en laboratoire. (v) Enfin, cette étude a pour objectif d'étudier l'évolution spatio-temporelle des cyanobactéries dans la colonne d'eau à partir de la FIV détectée pendant les périodes de suivi au lac Saint-Charles en 2007 et 2008.

3.2 Hypothèses

1. Les valeurs de densité (YSI) et de biomasse des cyanobactéries (BBE) sont sous-estimées lorsque les fluorimètres sont utilisés tels que calibrés par les fabricants.
2. Les valeurs de biomasse totale (YSI et BBE) sont adéquates lorsque les fluorimètres sont utilisés tels que calibrés par les fabricants.
3. Les valeurs de densité (YSI), de biomasse des cyanobactéries (BBE) et de biomasse totale (YSI et BBE) sont sous-estimées en présence des formes coloniales des cyanobactéries.
4. Les limites de détection (LDM) et de quantification de la méthode (LQM) sont plus élevées en présence de formes coloniales de cyanobactéries.
5. L'application d'une méthode de calibration développée en laboratoire à partir d'une souche unicellulaire de cyanobactéries représentant les communautés dominantes du plan d'eau à l'étude permet d'optimiser l'estimation rapide des cyanobactéries obtenue à partir d'un fluorimètre.

4. Méthodes

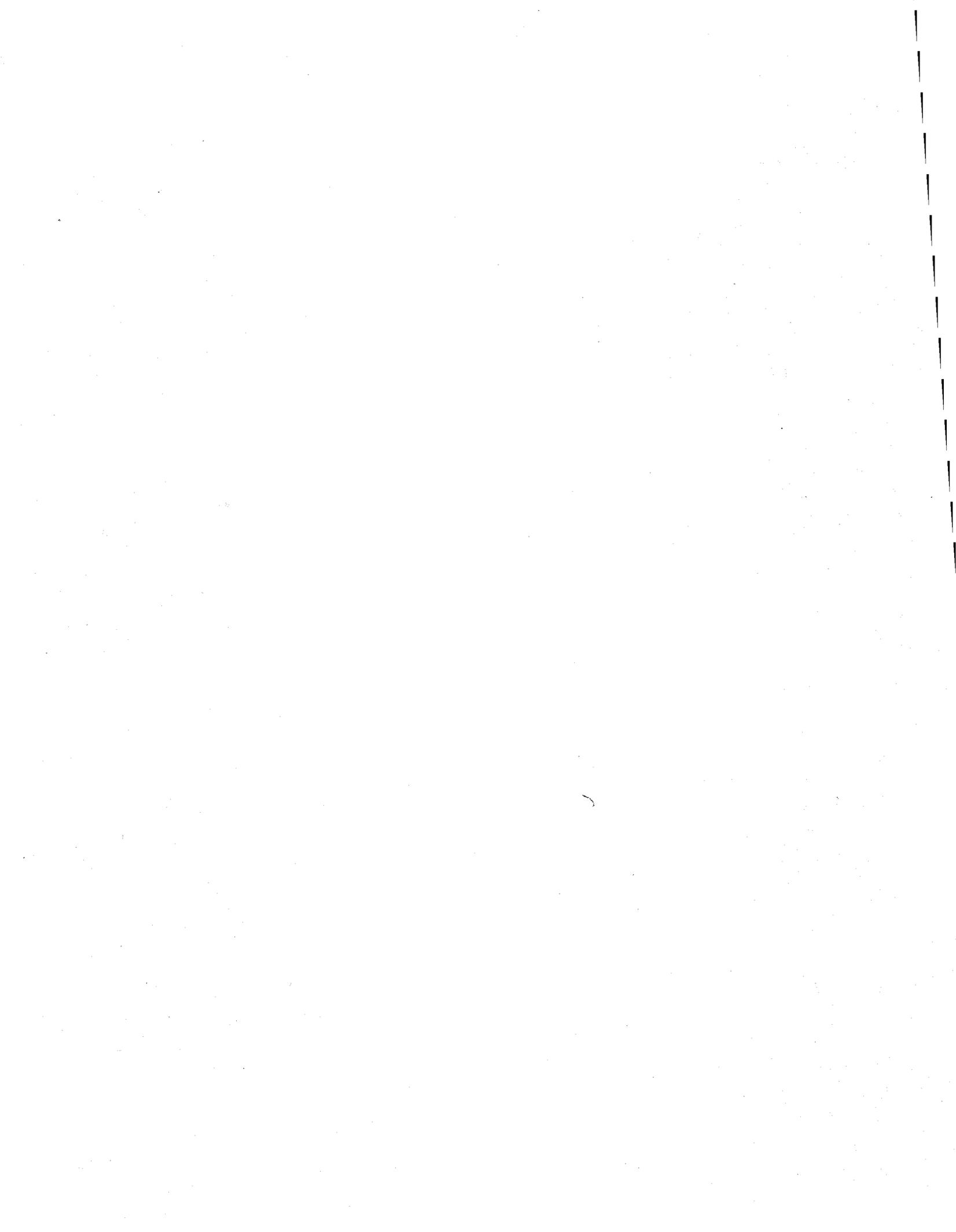
Suivi des cyanobactéries par fluorimétrie *in vivo* et comparaison aux méthodes conventionnelles de quantification

Deux détecteurs de FIV ont été utilisés pour estimer la densité ou la biomasse des cyanobactéries dans cette étude. La multisonde YSI-6600V2 munie des capteurs 6131 et 6025 estime la densité des cyanobactéries (en cellules ml^{-1}) à partir du signal de FIV du pigment PC et la biomasse totale du phytoplancton à partir de la FIV de la Chl-a ($\mu\text{g Chl-a L}^{-1}$). Le Fluoroprobe BBE-Moldaenke estime la biomasse totale du phytoplancton ainsi que la biomasse de chacun des quatre groupes spectraux, exprimée en $\mu\text{g Chl-a L}^{-1}$ (voir Beutler *et al.* 2002). La justesse et la linéarité de la méthode ont été caractérisées en conditions contrôlées en laboratoire à partir de cultures unicellulaire et coloniale de la cyanobactérie *Microcystis* isolées du lac Saint-Charles. Afin de développer une équation de calibration *a posteriori* pour corriger les valeurs de fluorescence détectées avec la sonde YSI calibrée par le fabricant, la souche unicellulaire de *M. aeruginosa* a été utilisée dans une première série de dilutions (160 à 320 000 cellules ml^{-1} , $n = 33$). La même souche unicellulaire de *M. aeruginosa* a ensuite été utilisée pour calibrer la sonde YSI puis une deuxième série de dilutions a été réalisée avec chacune des souches unicellulaire et coloniale de *M. aeruginosa* (5000 à 150 000 cellules ml^{-1} , $n = 22$). Les limites de détection et de quantification de la méthode ont été calculées à partir de cette deuxième série de dilutions. La performance des deux détecteurs de FIV évalués en laboratoire a ensuite été testée en milieu naturel, en utilisant comme site d'étude le lac Saint-Charles (46°56'N, 71°23'O; qui constitue une réserve d'eau potable pour plus de 230 000 résidents de la ville de Québec, Canada), pendant les saisons estivales et automnales en 2007 et 2008. Une analyse floristique de la communauté de phytoplancton a été réalisée par microscopie sur les échantillons prélevés en parallèle dans le plan d'eau pendant la période de suivi. Les dimensions moyennes des cellules dénombrées ont été mesurées afin de calculer le biovolume moyen des cellules des différents taxons identifiés. Ces valeurs ont ensuite été utilisées pour calculer les valeurs de densité « équivalente », c'est-à-dire en unité de cellules ayant un biovolume équivalent à celui de la souche de référence utilisée pour la calibration des fluorimètres (dans notre cas *Microcystis*, souche unicellulaire de $23 \mu\text{m}^3$). La biomasse totale a été dosée pour chacune des dilutions analysées par FIV, après une extraction à l'éthanol chaud (Nusch 1980) et une lecture de fluorescence de la Chl-a mesurée par spectrofluorimétrie, avant et après acidification (Sartory et Grobbelaar 1984). Le détail des méthodes est donnée dans les articles ci-dessous.

5. Plan du mémoire

Ce mémoire présente deux chapitres (2 et 3) rédigés sous la forme d'articles scientifiques. L'étude de la performance de deux types de fluorimètres submersibles, le YSI et le BBE, pour estimer la densité ou la biomasse de souches unicellulaire et coloniale de la cyanobactérie *Microcystis* à partir de la FIV en conditions contrôlées est présentée au deuxième chapitre. Ce chapitre présente également une méthode de calibration *a posteriori* pour corriger les valeurs de FIV détectées avec le YSI calibré par le fabricant. Les limites de détection et de quantification de la méthode sont ensuite établies pour le YSI, en présence des souches unicellulaire et coloniale de *Microcystis*.

Au troisième chapitre du mémoire, l'étude de la performance du YSI et du BBE pour détecter et faire le suivi rapide des cyanobactéries en milieu naturel est présentée. Ce chapitre présente également une seconde méthode de calibration *a posteriori* pour chacune des périodes de suivi en 2007 et 2008, qui permet de caractériser l'évolution spatio-temporelle des cyanobactéries au site d'étude.



Deuxième partie

Les articles

CHAPITRE 2. Évaluation de la performance de détecteurs de fluorescence *in vivo* pour estimer la densité ou la biomasse de souches unicellulaires et coloniales de cyanobactéries

Ce chapitre a été rédigé sous la forme d'article et sera traduit afin d'être soumis pour une publication dans une revue scientifique. L'ensemble du processus scientifique de cette section de l'étude ainsi que la rédaction a été réalisée par A. Warren, sous la direction de la professeure Laurion et la codirection de la professeure D. Planas. De plus, l'équipe de M. Christian Bastien, chercheur au Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, a contribué de façon significative au développement du desing expérimental présenté dans ce chapitre.

Résumé

Le développement d'efflorescences de cyanobactéries potentiellement toxiques connaît depuis les dernières décennies une augmentation importante dans les écosystèmes d'eau douce à l'échelle mondiale. Quelques cas de mortalité humaine ont été associées aux toxines des cyanobactéries, menant à l'émergence d'un besoin de suivre et gérer leur risque pour la santé. La détection de la fluorescence *in vivo* (FIV) de la phycocyanine (PC) est majoritairement associée à la présence des cyanobactéries dans les écosystèmes lacustres et les réservoirs d'eau douce, et a été utilisée comme un indice de suivi. La performance des détecteurs de FIV peut varier selon le type d'appareil, la calibration appliquée et en fonction des caractéristiques des différents taxons de cyanobactéries présentes. Les objectifs de cette étude sont 1- d'évaluer la performance de deux types de fluorimètres submersibles pour estimer les valeurs de densité ou de biomasse de souches unicellulaire et coloniale de *Microcystis* à partir de la FIV détectée en laboratoire 2- de développer une méthode de calibration *a posteriori* pour corriger les valeurs de FIV détectées avec les fluorimètres calibrés par le fabricant, 3- d'évaluer les limites de détection et de quantification de la méthode (LDM et LQM) à partir des souches unicellulaire et coloniale de *Microcystis*. Selon les résultats obtenus avec le fluorimètre YSI, la densité des cellules de la souche unicellulaire de *Microcystis* est fortement sous-estimée (99 %) avec la calibration du fabricant. Par contre, la FIV de la PC détectée par le YSI est fortement liée à la densité des cellules quantifiée par microscopie ($r^2 = 0.97$, $P < 0.0001$). La méthode de calibration *a posteriori* développée à partir de cette relation linéaire permet d'améliorer l'estimation, mais l'erreur relative moyenne demeure élevée, en particulier pour une densité inférieure à 20 000 cellules ml^{-1} (54 %). La calibration en laboratoire réalisée avec une souche unicellulaire de *Microcystis* permet d'améliorer la performance du YSI car l'erreur relative moyenne est inférieure avec ce type de calibration ($< 10\%$). Par contre, en présence de formes coloniales, la justesse des estimés et la relation avec la densité est plus faible ($r^2 = 0.55$, $P = 0.0002$) et l'erreur relative moyenne est importante ($> 38\%$). Les résultats suggèrent que les valeurs détectées par le YSI en présence des formes coloniales demeurent semi-quantitatives entre les valeurs de la LDM et de la LQM, soit entre 8 200 et 19 300 cellules ml^{-1} . Ces résultats indiquent qu'après une calibration *a posteriori* des valeurs détectées, le dépassement du seuil de 20 000 cellules ml^{-1} peut être détecté de façon juste car cette valeur est supérieure à la LQM établie pour l'appareil en présence de formes coloniales de *Microcystis*. Dans les conditions de l'étude et pour la souche unicellulaire de *Microcystis*, la biomasse totale estimée par le fluorimètre BBE n'est pas liée à la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie ($r^2 = 0.24$, $P < 0.01$). Toutefois, en présence de la souche coloniale de *Microcystis*, le BBE distingue le groupe des cyanobactéries ($r^2 = 0.83$, $P < 0.0001$) mais leur biomasse est sous-estimée.

Introduction

L'eutrophisation des écosystèmes d'eau douce connaît une augmentation importante à l'échelle mondiale depuis les dernières décennies (Chen *et al.* 2003). Ce phénomène est souvent associé à la prolifération de cyanobactéries potentiellement toxiques, qui constituent une menace importante pour la qualité de l'eau et de l'écosystème (Huisman *et al.* 2005). Les toxines des cyanobactéries, les cyanotoxines, ont été associées à la mortalité de nombreux organismes vivants et peuvent être néfastes pour la santé humaine (Codd *et al.* 2005). Quelques cas de mortalité humaine ont été recensés, menant à l'émergence d'un besoin de suivre et gérer le risque pour la santé associé aux cyanobactéries et leurs toxines (Carmichael 2001, Codd *et al.* 2005). Le risque sanitaire associé aux cyanobactéries qui forment des efflorescences nuisibles est influencé par plusieurs facteurs, en particulier par le type et la concentration des cyanotoxines et par la distribution des cellules dans un plan d'eau.

Le suivi du risque associé aux cyanobactéries est généralement basé sur deux approches complémentaires: le dosage des cyanotoxines et le dénombrement des cellules des différents taxons de cyanobactéries ayant un potentiel toxique à l'aide de la microscopie. Toutefois, les risques sanitaires associés aux cyanotoxines sont difficiles à estimer en raison de la variabilité des périodes d'exposition et du manque de connaissances sur l'ensemble des cyanotoxines caractérisées (plus de 90 variantes; Brient *et al.* 2008). De plus, puisque les cyanobactéries qui forment des efflorescences nuisibles n'expriment pas leur potentiel toxique en tout temps, il est essentiel de suivre leur développement. La distribution spatio-temporelle des cyanobactéries peut être complexe, par exemple la densité des cyanobactéries à la surface d'un plan d'eau peut varier rapidement si les effets de leur capacité à migrer verticalement dans la colonne d'eau et l'influence des courants et des vents forts sont combinés. Dans ce contexte, l'utilisation d'une méthode de suivi des cyanobactéries par microscopie, qui nécessite plusieurs heures d'analyses en laboratoire, s'avère à la fois laborieux, coûteux et limite la rapidité à appliquer des mesures appropriées pour gérer le risque associé aux cyanobactéries nuisibles. Pour ces raisons, les campagnes de suivi des cyanobactéries réalisées sont peu nombreuses et les patrons spatio-temporels de formation des efflorescences de cyanobactéries dans les grandes étendues d'eau continentales sont mal connus (Gons *et al.* 2005).

Afin d'établir un système d'alerte performant pour la gestion du risque associé à la présence de cellules de cyanobactéries à potentiel toxique, il est nécessaire d'utiliser une méthode rapide, sensible et plus simple à interpréter que l'analyse floristique par microscopie. La méthode retenue doit être suffisamment sensible pour permettre de détecter les populations de cyanobactéries avant qu'elles ne soit abondantes (Huisman *et al.* 2005). La détection de la fluorescence *in vivo* (FIV) du pigment PC a été utilisée comme un indice de la biomasse ou de

la densité des cyanobactéries dans le cadre de programmes de suivi des milieux aquatiques à risque (Gregor *et al.* 2005, 2007, Izydorczyk *et al.* 2005, Simis *et al.* 2007, Brient *et al.* 2008). La détection des propriétés bio-optiques du phytoplancton, *in vivo* (dans les cellules vivantes), est un outil efficace pour suivre à une fréquence élevée les communautés de phytoplancton (Seppälä et Balode 1998). À la suite du développement de fluorimètres permettant d'estimer la biomasse totale du phytoplancton à partir de la détection de la FIV émise par la Chl-a, plusieurs études ont été réalisées à partir de fluorimètres multi-spectraux afin de distinguer et estimer l'abondance relative des groupes de phytoplancton et des cyanobactéries à partir du spectre d'excitation et d'émission de fluorescence de leurs pigments respectifs (par ex. Yentsch et Yentsch 1979, Vincent 1983, Yentsch et Phinney 1985, Poryvkina *et al.* 1994, Millie *et al.* 2002, Beutler *et al.* 2002, 2003). Plusieurs types de fluorimètres submersibles ont été développés pour détecter la FIV des cyanobactéries *in situ*. Certains types d'appareils sont munis de deux canaux d'excitation/détection conçus pour détecter de façon indépendante la biomasse totale du phytoplancton et les cyanobactéries (par ex. Chl-a: excitation à 440 nm et détection de la FIV émise à 680 nm, PC: excitation à 620 nm et détection à 645 nm; Lee *et al.* 1995, Ahn *et al.* 2007). Ce type de fluorimètre (par ex. le YSI-6600V2 muni des capteurs 6131 et 6025) estime la densité des cellules de cyanobactéries à partir de l'intensité de la FIV de la PC, en fonction d'une calibration basée sur la FIV d'une souche unicellulaire ayant un biovolume connu (par ex. en cellules ml^{-1} ayant un biovolume équivalent à celui d'une souche de *Microcystis* utilisée pour la calibration), en plus d'estimer la biomasse totale du phytoplancton à partir de la FIV de la Chl-a ($\mu\text{g Chl-a L}^{-1}$). Un type de fluorimètre multi-spectral développé par Beutler *et al.* (2002), le Fluoroprobe de BBE Moldaenke, détecte l'intensité et la signature spectrale de la FIV émise par la Chl-a après une excitation séquentielle des pigments, impliquant jusqu'à sept longueurs d'ondes d'excitation (par ex. excitation à 370, 430, 470, 525, 570, 590, 610 nm et détection à 680-690 nm). Ce type de fluorimètre estime la biomasse totale, en unité de Chl-a ($\mu\text{g Chl-a L}^{-1}$), des différents groupes spectraux de phytoplancton et des cyanobactéries à partir de leur spectre de FIV spécifique, selon la calibration développée par le fabricant (Beutler *et al.* 2002, 2003).

Les valeurs estimées à partir de la FIV sont généralement données dans une unité équivalente aux caractéristiques des espèces de référence utilisées pour la calibration de l'appareil par le fabricant. L'utilisation de la densité cellulaire comme unité de mesure peut affecter la justesse des résultats fournis par un détecteur de FIV si le biovolume des cellules n'est pas considéré, car la taille des cellules de cyanobactéries peut grandement varier selon les différents taxons quantifiés par microscopie (Bastien *et al.* 2011). Afin de tenir compte de la variation des dimensions spécifiques des taxons de cyanobactéries pouvant être identifiés dans un échantillon, les valeurs de densités de cellules doivent être converties en biovolume (μm^3) puis les résultats peuvent ensuite être exprimés en densité de cellules ayant un biovolume équivalent

à celui de la souche de référence utilisée pour la calibration (en cellules de $x \mu\text{m}^3 \text{ml}^{-1}$). De plus, un fluorimètre calibré avec une souche unicellulaire pourrait sous-estimer la densité d'une souche coloniale ou filamenteuse car la lumière d'excitation de l'appareil ne peut atteindre les cellules situées au centre des grandes colonies. Par ailleurs, les propriétés de FIV varient entre les différents taxons phytoplancton et de cyanobactéries, et elles peuvent être affectées par de nombreux facteurs, à la fois associées aux organismes eux-mêmes (à leur physiologie, par ex. la configuration des assemblages pigmentaires) et aux conditions environnementales spécifiques au plan d'eau à l'étude (par ex. l'histoire lumineuse, voir MacIntyre *et al.* 2011). Cette variabilité entrave le développement d'une calibration « universelle » du spectre de fluorescence des différents groupes de phytoplancton (Poryvkina *et al.* 2000). Par exemple, l'étude de Le Boulanger *et al.* (2002) a montré que la calibration d'un fluorimètre à partir d'une souche de cyanobactérie isolée dans milieu naturel à l'étude, où elle domine la communauté de phytoplancton, peut optimiser les valeurs estimées et permettre de suivre le développement des populations de cette espèce *in situ*. Les valeurs estimées à l'aide d'un fluorimètre calibré par le fabricant doivent donc être validées ou calibrées *a posteriori* à l'aide d'une méthode développée avec les valeurs de densité des cyanobactéries quantifiées par microscopie.

L'étude menée en conditions contrôlées en laboratoire vise dans un premier temps à évaluer la justesse et la linéarité des valeurs de densité ou de biomasse cyanobactérienne estimées à partir de la FIV de cultures de souches unicellulaire et coloniale de la cyanobactérie *Microcystis* isolées dans le milieu naturel à l'étude, le lac Saint-Charles, et détectée avec deux types de fluorimètres submersibles, le fluorimètre YSI et le Fluoroprobe BBE. Cette étude a comme deuxième objectif de développer une méthode de calibration *a posteriori* à partir des valeurs de FIV de la PC détectées chez la souche unicellulaire de *Microcystis*, afin de pouvoir corriger rapidement les estimés détectés *in situ*. Le troisième objectif de cette étude est d'évaluer les limites de détection et de quantification de la méthode, en présence de souches unicellulaire et coloniale de *Microcystis*, pour déterminer à partir de quelle densité cellulaire peuvent être détectés les seuils décisionnels pour l'évaluation du risque associé aux cyanobactéries.

Méthodologie

Culture des souches de cyanobactéries, dilutions et détection de la FIV

Des souches coloniales et unicellulaires de la cyanobactérie *M. aeruginosa* ont été isolées au lac Saint-Charles en septembre 2007 et maintenues en culture dans le medium BG11 (Rippka *et al.* 1979), à 26°C et avec une photopériode de 16:8 (16 heures de lumière) combinée à une faible intensité d'éclairement ajustée à $20 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, en présence d'une légère agitation continue. Afin de favoriser le maintien de la forme coloniale, qui correspond davantage

à ce qui est retrouvé en milieu naturel, le milieu de culture préparé est appauvri en azote, les autres conditions demeurant identiques aux conditions de croissance des souches unicellulaires. La proportion de cellules sous forme unicellulaire dans les suspensions coloniales est demeurée inférieure à 1% de la densité totale. Les mesures effectuées en laboratoire ont été réalisées sur des cultures de *Microcystis* en phase exponentielle de croissance. Les séries de dilutions ont été conçues à partir de sous-échantillons des différentes souches cultivées et diluées dans le médium BG11 dans une gamme de concentration permettant de tester les deux détecteurs optiques de FIV (le YSI et le BBE) aux différents seuils recommandés pour la gestion du risque (voir OMS 1998, Carmichael 2001). La souche unicellulaire de *M. aeruginosa* a été utilisée dans une première série de dilutions (160 à 320 000 cellules ml^{-1} , $n = 33$) afin de développer une équation de calibration *a posteriori* pour corriger les valeurs de fluorescence détectées avec la sonde YSI calibrée par le fabricant. L'équation de calibration est obtenue en comparant les valeurs de fluorescence avec la densité quantifiée par microscopie. La sonde YSI a ensuite été calibrée en laboratoire à partir de la même souche unicellulaire de *M. aeruginosa* (calibration en 2 points : zéro et 29 000 cellules ml^{-1}), puis une deuxième série de dilutions a été réalisée (5000 à 150 000 cellules ml^{-1} , $n = 22$ pour chacune des souches unicellulaire et coloniale de *M. aeruginosa*). Les analyses ont été effectuées dans le noir à une température constante (~ 20 °C), dans des contenants avec un volume de 10 litres de chacune des dilutions et avec un léger brassage standardisé, suffisant pour homogénéiser les dilutions pendant la durée de la lecture. Pour chacune des dilutions, dix réplicats des mesures de FIV obtenues avec les deux appareils sont enregistrées afin de calculer la moyenne et l'écart-type des valeurs détectées. La fluorescence du médium de culture (le blanc des dilutions) a été détectée avec les fluorimètres YSI et BBE, après la filtration d'un volume de 10 litres sur un filtre en fibre de verre (25 mm, MFS), dans les mêmes conditions que les analyses réalisées avec les séries de dilutions (mêmes contenants, température constante, dans le noir, moyenne de dix réplicats).

Fluorimètre YSI

La multisonde YSI-6600V2 (YSI Inc., OH, États-Unis) estime la densité des cyanobactéries à partir du signal de fluorescence du pigment PC (excitation à 610 nm; détection entre 600 et 700 nm). Le YSI permet également d'estimer la biomasse du phytoplancton à partir de la fluorescence de la Chl-a (excitation à 470 nm; détection entre 650 et 700 nm) et mesure la profondeur, la température, l'oxygène dissous, le pH et la conductivité. Le YSI est utilisé avec deux types de calibration: 1- avec une solution de rhodamine (telle qu'effectuée par le fabricant) et 2- en laboratoire à partir d'une souche unicellulaire de *M. aeruginosa* isolée dans le plan d'eau à l'étude (calibration en 2 points: zéro et 29 000 cellules ml^{-1}). Les valeurs de FIV détectées par le fluorimètre YSI sont exprimées en unité relative de fluorescence (urf) et en

densité cellulaire (cellules ml⁻¹). La souche unicellulaire de *Microcystis* utilisée pour la calibration de l'appareil possède un biovolume moyen de 23 µm³. L'unité de mesure donnée par le YSI représente donc une densité de cellules de même biovolume que l'espèce utilisée pour la calibration. Le YSI n'est pas conçu pour tenir compte de la fluorescence de l'eau dans laquelle se trouvent les cellules à détecter. La valeur de la FIV du médium de culture (le blanc des dilutions) a été soustraite des valeurs de FIV détectées lors de l'analyse des séries de dilutions.

Fluorimètre BBE

Le Fluoroprobe (BBE-Moldaenke, Kiel, Allemagne) utilisé dans cette étude est programmé pour détecter quatre groupes spectraux de phytoplancton à partir de la déconvolution du spectre d'excitation spécifique aux différents groupes, en présence d'une excitation séquentielle par des diodes électroluminescentes (DEL) émettant à 6 longueurs d'ondes d'excitation (à 370, 470, 525, 570, 590, et 610 nm) avec une détection de la fluorescence émise entre 680 et 690 nm. Un logiciel (Fluoroprobe 1.9) est utilisé pour convertir les valeurs de FIV en biomasse totale en unité de Chl-a (µg Chl-a L⁻¹) de chacun des quatre groupes spectraux, à partir de leur spectre de FIV spécifique selon la calibration développée par le fabricant (voir Beutler *et al.* 2002, 2003). L'appareil détecte et tient compte de la matière organique dissoute colorée (MODC) dans l'analyse du signal de FIV détecté. La signature spectrale du médium de culture (le blanc des dilutions) a été enregistrée dans les paramètres de calibration du logiciel de traitement des résultats du BBE avant de générer les estimés de biomasse des cyanobactéries.

Quantification de la densité et du biovolume

Un sous-échantillon de chacune des dilutions a été conservé pour l'analyse de la densité cellulaire et du biovolume, avec un microscope inversé (Axiovert 200, Zeiss) à un grossissement de 400X en mode de contraste de phase interférentiel, après concentration d'un volume connu d'un échantillon (10 à 50 ml) par sédimentation (Utermöhl 1958). Le décompte d'au moins 400 cellules par échantillon assure la validité statistique des résultats (± 10% à un seuil de confiance de 95%, Venrick 1978). Les échantillons sont sélectionnés de façon aléatoire afin de minimiser les risques de biais liés au manque d'expérience au début de l'analyse microscopique. L'abondance des différents taxons est calculée à partir de l'équation suivante :

$$[\text{cell}] = \text{Nbr} / (a/A) * V \quad \text{où} \quad a = C400X * (R400X)^2 * \pi$$

où [cell] est la densité cellulaire (cellules ml⁻¹), Nbr la quantité de cellules d'un taxon, a la superficie dénombrée, A la superficie totale de la chambre de sédimentation, V le volume de l'échantillon sédimenté, C400X les champs dénombrés à 400X, et R400X le rayon du champ à 400X (Bouchard-Valentine 2004). L'abondance de la souche unicellulaire a également été quantifiée par cytométrie en flux (Becton Dickinson FACScalibur). La densité des différentes

souches de cyanobactéries quantifiée par microscopie ou par cytométrie est convertie en biovolume (ou biomasse fraîche; $\mu\text{m}^3 \text{ ml}^{-1}$) à partir de la dimension moyenne de 40 cellules mesurées et des équations proposées par Sun et Liu (2003) en assumant une densité spécifique égale à 1 (Lewis 1976).

Quantification de la biomasse totale

Pour chacune des dilutions analysées par FIV, un sous-échantillon a été préparé pour le dosage de la chlorophylle comme estimateur de la biomasse totale. Un volume connu (250 à 500 ml, en triplicate) a été concentré sous un éclairage tamisé sur un filtre en fibre de verre (25 mm, MFS) et immédiatement entreposé à -80°C jusqu'à l'extraction de la chlorophylle-a (Chl-a). La Chl-a a été extraite dans l'éthanol 90% chaud (Nusch 1980) et l'absorbance a été mesurée par spectrofluorimétrie, avant et après acidification (Sartory et Grobbelaar 1984).

Calcul des limites de détection de la méthode (LDM) et de quantification de la méthode (LQM)

Les limites de détection et de quantification du fluorimètre YSI ont été calculées à partir des valeurs détectées lors de la deuxième série de dilutions réalisée avec chacune des souches unicellulaire et coloniale de *Microcystis*. La valeur de la LDM de l'appareil est déterminée selon la méthode suivante. Pour chacune des dilutions, calculer la valeur équivalente à 3 fois l'écart-type des 10 réplicats de lecture de FIV. Ensuite, lorsque la valeur quantifiée par microscopie pour une dilution donnée se situe entre 5 et 7 fois la valeur calculée à la première étape pour cette même dilution ($5 \times [3 \text{ fois l'écart-type des 10 réplicats}] < \text{densité quantifiée par microscopie} < 7 \times [3 \text{ fois l'écart-type des 10 réplicats}]$), la LDM correspond à la valeur calculée pour cette dilution, soit 3 fois l'écart-type des 10 réplicats. La limite de quantification (LQM) a été calculée comme égale à 10 fois l'écart-type de 10 réplicats de la dilution retenue pour calculer la LDM (CEAEQ 2007b).

Évaluation de la justesse des valeurs estimées par FIV

La justesse, ou l'erreur relative (%), est calculée pour les valeurs situées dans la zone quantifiable à partir de l'équation suivante :

$$\text{Erreur relative (\%)} = [V_v - V_d] / V_v * 100$$

Dans cette équation, le symbole V_v correspond à la vraie valeur quantifiée avec la méthode de référence et V_d correspond à la moyenne des valeurs détectées par FIV.

Analyses statistiques

Les régressions linéaires et leur coefficient de détermination (R^2) sont obtenus avec le logiciel Sigma Plot (version 8.0).

Résultats

Estimation de la densité des cyanobactéries avec le fluorimètre YSI

Justesse et linéarité des valeurs de densités cellulaires estimées selon les types de calibration

La relation entre la densité des cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI et la densité vraie des cellules d'une souche unicellulaire de *Microcystis* a été analysée en conditions contrôlées. Avec la calibration du fabricant, le YSI sous-estime de deux ordres de grandeur les valeurs de densité des cellules de la souche unicellulaire de *Microcystis* (Figure 2.1, cercles noirs) et l'erreur relative (%) moyenne entre les valeurs estimées avec la calibration du fabricant et les valeurs vraies quantifiées par microscopie est élevée (99 %, Tableau 2.1). Par contre, le signal de FIV de la PC détecté par le YSI est fortement lié à la densité des cellules quantifiée par microscopie (Figure 2.1 A; $y = 81x - 8291$, $r^2 = 0.97$, $P < 0.0001$, $n = 24$). Une méthode de calibration *a posteriori* a été développée à partir de la relation entre la FIV de la PC (urf) et la densité quantifiée par microscopie:

$$[\text{densité}] = 170658 * [\text{FIV de la PC en urf}] + 17731 \quad (\text{Équation 1})$$

Cette équation est utilisée pour effectuer la calibration *a posteriori* des valeurs détectées avec le YSI calibré par le fabricant. Les valeurs estimées par le YSI et corrigées à partir de l'équation 1 se rapprochent des valeurs quantifiées par microscopie (Figure 2.1 B, cercles bleus; $y = 1.06x - 1166$, $r^2 = 0.97$, $P < 0.0001$, $n = 24$). Après l'application de la méthode de calibration *a posteriori*, l'erreur relative (%) moyenne entre les valeurs estimées et les vraies valeurs demeure relativement élevée pour les densités entre 5000 et 20 000 cellules ml^{-1} (54%) mais elle diminue pour les densités entre 20 000 et 100 000 cellules ml^{-1} (21%, Tableau 2.1).

Afin d'évaluer l'effet de la présence de formes coloniales de cyanobactéries sur la justesse et la linéarité des valeurs estimées à partir de la FIV de la PC détectée par le YSI en conditions contrôlées, une calibration en laboratoire est effectuée à partir de la souche unicellulaire de *Microcystis*, puis les valeurs de densité estimées pour les souches unicellulaire et coloniale de *Microcystis* sont comparées. En présence de la souche unicellulaire de *Microcystis*, les valeurs estimées avec l'appareil calibré en laboratoire sont fortement liées à la densité quantifiée par microscopie (Figure 2.2 A, cercles blancs; $y = 1.07x - 1382$, $r^2 = 0.98$, $P < 0.0001$, $n = 27$) et l'erreur relative moyenne est faible, respectivement de 6% et 7% pour les deux classes de densité cellulaire établies, soit de 5000 à 20 000 cellules ml^{-1} et de 20 000 à 100 000 cellules ml^{-1} (Tableau 2.2). Par contre, la relation développée entre les valeurs estimées pour la souche coloniale de *Microcystis* et la densité « équivalente » quantifiée par microscopie (équivalant à des cellules de *Microcystis* de forme unicellulaire et ayant un biovolume moyen de $23 \mu\text{m}^3$) est faible (Figure 2.2 B, carrés gris; $y = 3.79x - 6754$, $r^2 = 0.55$, $P = 0.0002$, $n = 20$) et

l'erreur relative moyenne est plus élevée qu'en présence de la souche unicellulaire utilisée pour la calibration de l'appareil, respectivement de 38% et 59% pour les deux classes de densité cellulaire établies (Tableau 2.2).

Limites de détection et limites de quantification du YSI calibré en laboratoire

À partir des résultats obtenus à partir de la FIV de la PC détectée avec le fluorimètre YSI calibré en laboratoire avec la souche unicellulaire de *Microcystis*, la limite de détection de la LDM et la LQM ont été calculées pour les souches unicellulaire et coloniale de *Microcystis* (Tableau 2.3). La LDM est établie à 3290 cellules ml⁻¹ et la LQM à 8231 cellules ml⁻¹ en présence de la souche unicellulaire. En présence de la souche coloniale, la LDM est de 8185 cellules ml⁻¹ et la LQM atteint 19 271 cellules ml⁻¹. Les valeurs estimées entre la LDM et LQM sont considérées semi-quantitatives (CEAEQ 2007b).

Estimation de la biomasse des cyanobactéries avec le fluorimètre YSI

Justesse et linéarité des valeurs de biomasse estimées selon la calibration du fabricant

La justesse et la linéarité de la biomasse totale estimée à partir de la FIV de la Chl-a par le fluorimètre YSI a également été évaluée avec les souches unicellulaire et coloniale de *Microcystis* en conditions contrôlées. Les valeurs estimées pour la souche unicellulaire de *Microcystis* sont légèrement surestimées mais fortement liées à la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie (Figure 2.3 A, triangles noirs; $y = 0.84x + 0.1$, $r^2 = 0.99$, $P < 0.0001$, $n = 26$). Les valeurs de biomasse détectées en présence de la souche coloniale de *Microcystis* sont sous-estimées et la relation est faible (Figure 2.3 B, carrés gris; $y = 2.13x - 3.49$, $r^2 = 0.47$, $P = 0.0016$, $n = 18$).

Estimation de la biomasse des cyanobactéries avec le fluorimètre BBE

Justesse et linéarité des valeurs de biomasse estimées selon la calibration du fabricant

En présence d'une culture de la souche unicellulaire de *Microcystis*, le fluorimètre BBE calibré par le fabricant n'attribue pas la FIV détectée au groupe spectral des cyanobactéries (Figure 2.4 A, cercles noirs; $y = -72x + 6.55$, $r^2 = 0.24$, $P < 0.01$, $n = 27$), mais plutôt au groupe spectral des algues vertes. Par contre, la biomasse totale de l'ensemble des groupes spectraux de phytoplancton estimée par le fluorimètre BBE est fortement liée à biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie, bien que les valeurs soient surestimées (Figure 2.4 B, triangles noirs; $y = 0.45x + 0.37$, $r^2 = 0.98$, $P < 0.0001$, $n = 27$). En présence de formes coloniales de la cyanobactérie *Microcystis*, le fluorimètre BBE calibré par le fabricant attribue la FIV détectée au groupe spectral des cyanobactéries, mais les valeurs sont sous-estimées (Figure 2.5 A, cercles gris; $y = 1.78x - 0.15$, $r^2 = 0.83$, $P < 0.0001$, $n = 18$). Par ailleurs, la relation entre la biomasse

totale détectée par le BBE et la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie est plus faible en présence de formes coloniales de *Microcystis* qu'en présence de la souche unicellulaire et les valeurs sont sous-estimées (Figure 2.5, triangles gris; $y = 1.33x - 0.54$, $r^2 = 0.77$, $P < 0.0001$, $n = 18$). Ainsi, pour une même biomasse totale, les valeurs détectées par le BBE indépendamment des groupes spectraux de phytoplancton sont plus faibles lorsque les cellules de *Microcystis* sont regroupées en colonies.

Discussion

Estimation de la densité et de la biomasse des cyanobactéries avec le fluorimètre YSI

Les valeurs de densité de cellules de la souche unicellulaire de *Microcystis* détectées par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant sont grandement sous-estimées, de deux ordres de grandeur, mais la relation est forte entre la FIV de la PC et la densité vraie de *Microcystis*. La méthode de calibration *a posteriori* développée pour la souche unicellulaire de *Microcystis* à partir de la relation entre la FIV de la PC et la densité quantifiée par microscopie permet d'améliorer les estimés bien que la différence entre les valeurs vraies et estimées demeure élevée pour les densités inférieures à 20 000 cellules ml^{-1} (54%) et entre 20 000 et 100 000 cellules ml^{-1} (21%). L'équation 1 peut être utilisée pour effectuer rapidement une première calibration *a posteriori* des valeurs de FIV de la PC détectées avec l'appareil calibré par le fabricant, mais cette méthode devrait surtout être utilisée pour des lacs où *Microcystis* domine (voir l'étude de cas menée au lac Saint-Charles au troisième chapitre de ce mémoire). Cette équation devrait toujours être validée, particulièrement dans les cas où d'autres espèces de cyanobactéries dominent la communauté de phytoplancton dans un plan d'eau à l'étude, car un fluorimètre calibré avec une espèce de cyanobactéries ayant des cellules de petite taille (par ex. *M. aeruginosa* : diamètre de 3.5 μm) pourrait surestimer le nombre de cellules lorsque l'échantillon est dominé par un genre de cyanobactérie avec des cellules de plus grande taille (par ex. *Anabaena* sp.: 6 x 3.5 μm) et sous-estimer la densité d'une espèce de plus petite taille (par ex. *Aphanocapsa* sp.: diamètre de 2 μm). La présence de matières qui influence la propagation de la lumière dans l'eau ainsi que la qualité du spectre lumineux disponible pour les organismes photosynthétiques (par ex. l'eau, la MODC, les particules en suspension) peut également nuire à l'efficacité des fluorimètres et est donc être considéré dans l'analyse des résultats (« blanc » ou « bruit de fond » associés à la couleur de l'eau du lac).

En présence de la même souche unicellulaire de *Microcystis* que celle utilisée pour la calibration du YSI, l'erreur relative (%) moyenne des valeurs de densité estimées à partir de la FIV de la PC est inférieure à 10%. Ces résultats démontrent que la performance de l'appareil peut être améliorée par une calibration en laboratoire avec une souche de cyanobactéries. Par ailleurs,

en milieu naturel, les populations de cyanobactéries qui forment des efflorescences sont généralement dominées par des formes coloniales (par ex. *Microcystis*) ou des regroupements de filaments (par ex. *Anabaena*).

Selon les analyses réalisées à partir de la souche coloniale de *Microcystis*, la présence de formes coloniales limite considérablement la justesse des estimés fournis par l'appareil fraîchement calibré. En effet, l'incertitude associée à l'estimation de la densité cellulaire mesurée à partir de la FIV de la PC par le YSI est élevée en présence de la souche coloniale de *Microcystis* (>38%), la relation avec la densité quantifiée par microscopie est faible et les valeurs de densités sont sous-estimées d'un facteur de 3. La biomasse totale de la souche coloniale de *Microcystis* détectée à partir de la FIV de la Chl-a est également sous-estimée d'un facteur de 2 par le fluorimètre YSI fraîchement calibré. La sous-estimation de la densité des cellules dans les colonies pourrait être influencée par plusieurs facteurs. Par exemple, les cellules regroupées en colonies pourraient présenter des propriétés d'absorption et d'émission de la FIV différentes de celles de forme unicellulaire, en particulier les cellules situées au centre de la colonie pourraient montrer une variation dans l'absorption de la lumière et de l'efficacité du transfert d'énergie du photosystème ou encore une variation du rendement de fluorescence. L'agrégation des cellules en colonies peut également affecter la détection de la fluorescence car la lumière d'excitation émise par un fluorimètre ne peut atteindre les cellules situées au centre des grandes colonies et la fluorescence émise par les cellules peut être dispersée et réabsorbée, entraînant une sous-estimation de la biomasse (Asai *et al.* 2000, Wu et Song 2008).

La LDM correspond théoriquement à la plus basse concentration d'un composé qui produit un signal détectable avec une fiabilité définie (CEAEQ 2007b). Dans le cadre du suivi des cyanobactéries à l'aide d'un détecteur de FIV, il est également nécessaire de tenir compte de la LQM, qui correspond à la limite inférieure pour laquelle les valeurs détectées peuvent être considérées comme justes. Selon le fabricant du fluorimètre YSI, la LDM de l'appareil est établie à 220 cellules ml^{-1} (YSI 2006). Par contre, selon les essais réalisés dans cette étude, la LDM atteint plus de 3000 cellules ml^{-1} en présence de cellules de *Microcystis* de forme unicellulaire et plus de 8000 cellules ml^{-1} en présence de la forme coloniale. De plus, les résultats suggèrent que le dépassement du seuil de 20 000 cellules ml^{-1} peut être détecté de façon juste par l'appareil car cette valeur est supérieure à la LQM établie pour la forme coloniale de *Microcystis*. Toutefois, comme l'erreur relative moyenne est élevée lorsque les cellules sont regroupées en colonies, aux densités au-dessus du seuil retenu (59 % pour la classe de densité de 20 000 à 100 000 cellules ml^{-1}), l'estimation fournie à partir de la FIV doit être validée par microscopie avant de pouvoir établir avec certitude qu'un seuil décisionnel pour l'évaluation du risque associé aux cyanobactéries est atteint.

Estimation de la biomasse des cyanobactéries avec le fluorimètre BBE

Le signal de FIV détecté chez les cellules de la souche unicellulaire de *Microcystis* par le fluorimètre BBE calibré par le fabricant n'est pas attribué au groupe spectral des cyanobactéries dans les conditions de l'étude. Selon les conditions de l'étude, les cellules de la souche unicellulaire de *Microcystis* présentaient une signature spectrale perçue par l'appareil comme davantage semblable à celle des algues vertes qu'à celle du groupe spectral bleu, tel que calibré par le fabricant. Par ailleurs, la biomasse totale estimée par le fluorimètre BBE pour l'ensemble des groupes spectraux de phytoplancton est bien corrélée à la biomasse totale de la souche unicellulaire de *Microcystis* quantifiée par spectrofluorimétrie, mais les valeurs sont surestimées, en particulier les valeurs de biomasses totale supérieures à $5 \mu\text{g Chl-a L}^{-1}$, qui sont surestimées d'un facteur de 2.

Ces résultats contrastent avec ceux obtenus dans les mêmes conditions mais en présence de la souche coloniale de *Microcystis*. Bien que l'écart-type entre les réplicats de valeurs de FIV détectées pour une même dilution soit important, les valeurs de biomasse du groupe des cyanobactéries estimées par le BBE sont liées à la biomasse totale quantifiée selon la méthode conventionnelle. Toutefois, les valeurs de densité de cyanobactéries de forme coloniale sont sous-estimées, d'un facteur de 1.8 pour le groupe spectral des cyanobactéries et d'un facteur de 1.3 pour la biomasse totale détectée par le BBE. Pour une utilisation optimale du fluorimètre BBE et une détection adéquate du groupe des cyanobactéries, il serait sans doute approprié d'obtenir les signatures spectrales des différents groupes spectraux de phytoplancton qui dominant le milieu à l'étude (voir Le Boulanger *et al.* 2002) mais cette calibration pourrait induire des erreurs si les cyanobactéries ne dominent pas la communauté de phytoplancton. Ainsi, une méthode de calibration *a posteriori* n'a pu être développée pour le BBE à partir de la souche de *Microcystis* car les propriétés de FIV des quatre groupes spectraux sont liées dans l'analyse du signal détecté par l'appareil (voir MacIntyre *et al.* 2011) et la modification de la calibration d'un groupe entrave la détection et l'estimation de l'abondance relative des autres groupes de phytoplancton.

Figure 2.1 Relations entre la densité des cellules de cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant et la densité quantifiée par microscopie. A) Valeurs mesurées pour la souche unicellulaire de *Microcystis* (cercles noirs) et B) ces mêmes valeurs après la calibration *a posteriori* avec l'équation 1 (cercles bleus).

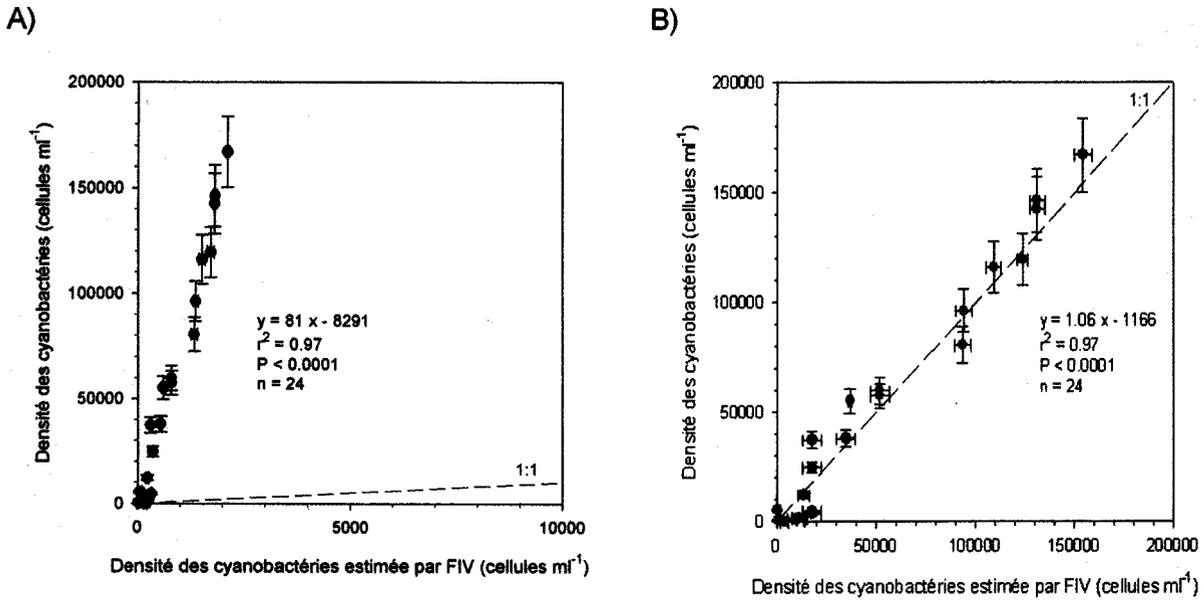


Figure 2.2 Relations entre la densité des cellules de cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI calibré en laboratoire avec la souche unicellulaire de *Microcystis* et la densité quantifiée par microscopie. A) Valeurs mesurées pour la souche unicellulaire (cercles blancs) et B) coloniale (cercles gris) de *Microcystis*.

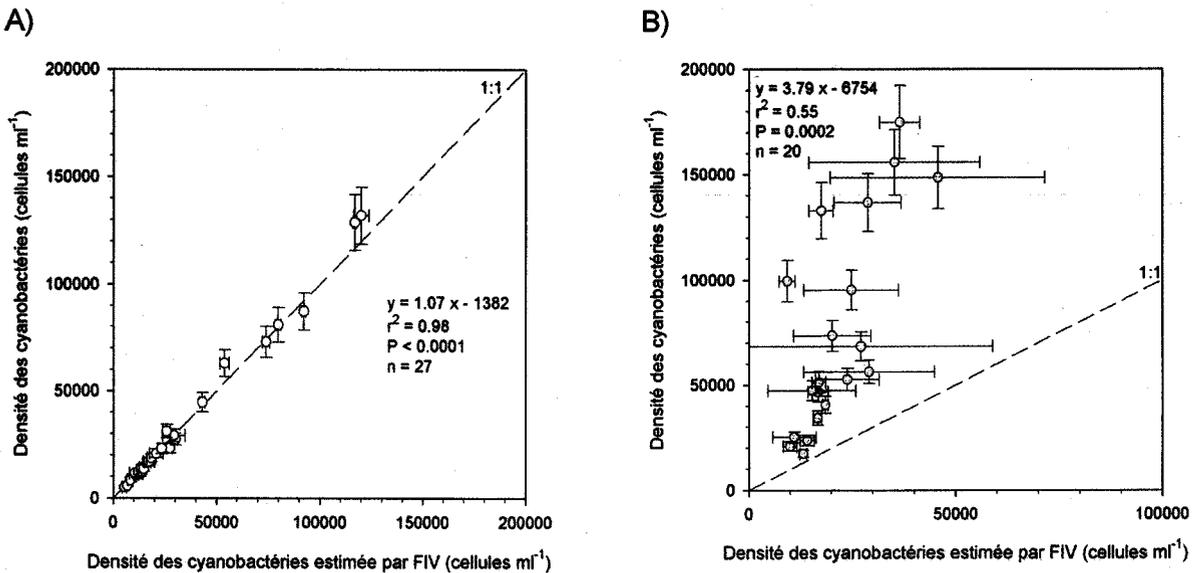
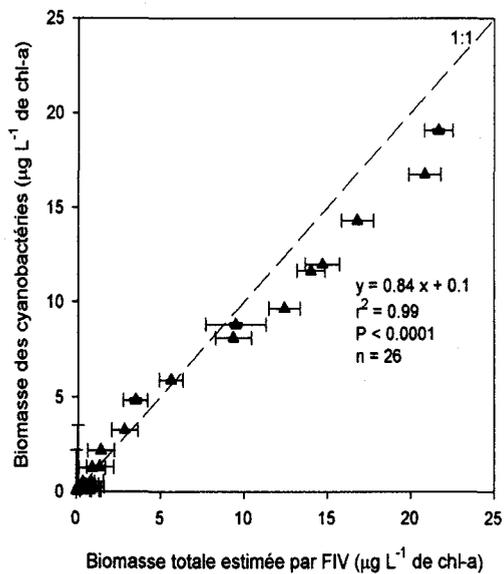


Figure 2.3 Relations entre la biomasse totale estimée à partir de la FIV de la Chl-a par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant et la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie. A) Valeurs mesurées pour la souche unicellulaire (triangles noirs) et B) coloniale (triangles gris) de *Microcystis*.

A)



B)

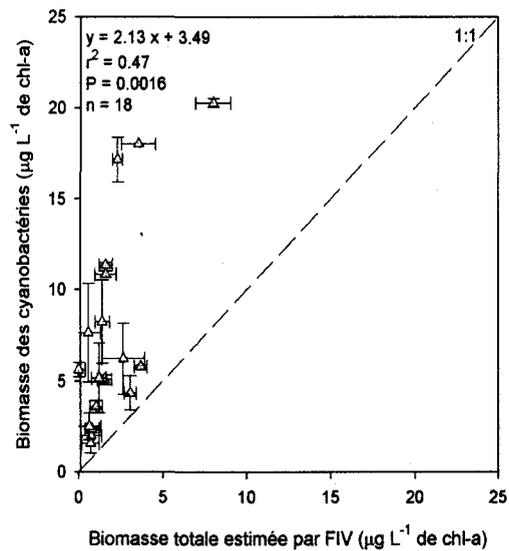


Figure 2.4 Relations, pour une souche unicellulaire de *Microcystis*, entre A) la biomasse des cyanobactéries (cercles noirs) ou B) la biomasse totale (triangles noirs) estimée à partir de la FIV de la Chl-a par le fluorimètre BBE calibré par le fabricant et la biomasse quantifiée par spectrofluorimétrie.

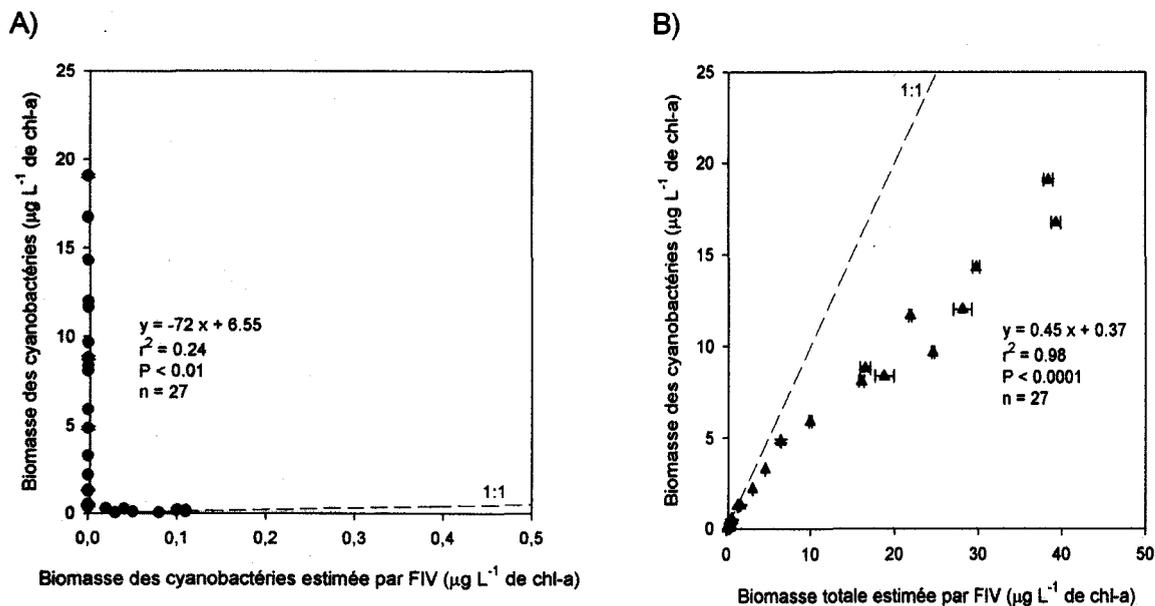


Figure 2.5 Relations, pour une souche coloniale de *Microcystis*, entre A) la biomasse des cyanobactéries (cercles gris) ou B) la biomasse totale (triangles gris) estimée à partir de la FIV de la Chl-a par le fluorimètre BBE calibré par le fabricant et la biomasse quantifiée par spectrofluorimétrie.

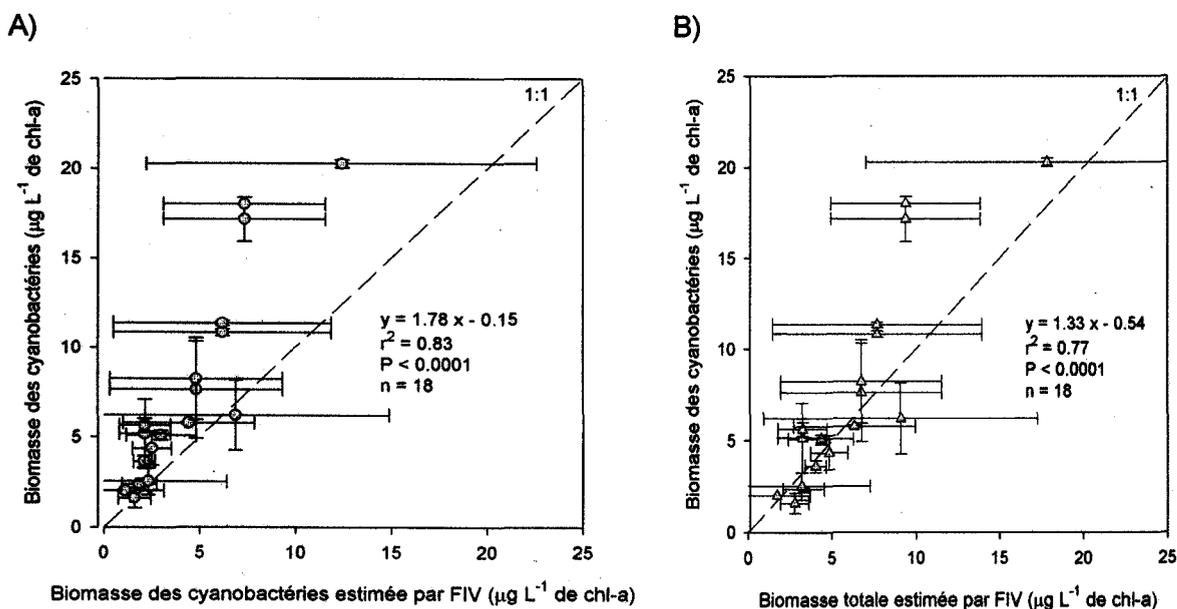


Tableau 2.1 Erreur relative (%) moyenne entre la densité des cellules de la souche unicellulaire de *Microcystis* estimée par le YSI selon les différents types de calibration et la densité quantifiée par microscopie.

YSI	Erreur relative (%) moyenne en présence d'une souche unicellulaire	
	5 000 à 20 000 cellules ml ⁻¹	20 000 à 100 000 cellules ml ⁻¹
Densité de <i>Microcystis</i>		
Calibration du fabricant	99 (± 1)	99 (± 0.3)
Calibration <i>a posteriori</i> développée en laboratoire (Équation 1)	54 (± 62)	21 (± 17)

Tableau 2.2 Erreur relative (%) moyenne entre la densité des cellules des souches unicellulaire et coloniale de *Microcystis* estimée par le YSI calibré en laboratoire avec la souche unicellulaire de *Microcystis* et la densité quantifiée par microscopie.

YSI	Erreur relative (%) moyenne en présence d'une souche unicellulaire		Erreur relative (%) moyenne en présence d'une souche coloniale	
	5 000 à 20 000 cellules ml ⁻¹	20 000 à 100 000 cellules ml ⁻¹	5 000 à 20 000 cellules ml ⁻¹	20 000 à 100 000 cellules ml ⁻¹
Densité de <i>Microcystis</i>				
Calibration en laboratoire à partir de la souche unicellulaire de <i>Microcystis</i>	6 (± 5)	7 (± 7)	38 (± 20)	59 (± 10)

Tableau 2.3 Limites de détection (LDM) et limites de quantification (LQM) de la densité de cellules cyanobactériennes estimée par le YSI calibré en laboratoire, pour les souches unicellulaire et coloniale de *Microcystis*.

YSI	Limites de la méthode en présence d'une souche unicellulaire		Limites de la méthode en présence d'une souche coloniale	
	LDM (cellules ml ⁻¹)	LQM (cellules ml ⁻¹)	LDM (cellules ml ⁻¹)	LQM (cellules ml ⁻¹)
Densité de <i>Microcystis</i>				
Calibration en laboratoire à partir de la souche unicellulaire de <i>Microcystis</i>	3 290 (± 726)	8 231 (± 2421)	8 185 (± 212)	19 271 (± 705)

CHAPITRE 3. Suivi des cyanobactéries en milieu lacustre par fluorimétrie *in vivo*; étude de cas menée au lac Saint-Charles, Québec.

Ce chapitre a été rédigé sous la forme d'article et sera traduit afin d'être soumis pour une publication dans une revue scientifique. L'ensemble du processus scientifique de cette section de l'étude ainsi que la rédaction a été réalisée par A. Warren sous la direction de la professeure Laurion et la codirection de la professeure D. Planas. Les travaux d'échantillonnage ont été réalisés en collaboration avec S. Bourget et W. F. Vincent, de l'université Laval.

Résumé

Le développement d'efflorescences de cyanobactéries potentiellement toxiques connaît une augmentation importante dans les écosystèmes d'eau douce à l'échelle mondiale depuis les dernières décennies. Quelques cas de mortalité humaine ont été associés aux cyanobactéries et leurs toxines, menant à l'émergence d'un besoin de suivre et gérer leur risque pour la santé. Dans les écosystèmes aquatiques d'eau douce, la détection de la fluorescence in vivo (FIV) du pigment phycocyanine (PC) est majoritairement associée à la présence des cyanobactéries et a été utilisée comme un indice de suivi. Les objectifs de cette étude sont 1- d'évaluer la performance des deux types de fluorimètres submersibles pour détecter et faire le suivi rapide des cyanobactéries en milieu naturel, en utilisant le cas du lac Saint-Charles, 2- de développer une méthode de calibration supplémentaire à celle développée en laboratoire au chapitre précédent, pour chacune des périodes de suivi en 2007 et 2008, afin de suivre l'évolution temporelle des populations de cyanobactéries sur toute la profondeur de la colonne d'eau. Selon les analyses fluorimétriques réalisées *in situ* avec la calibration du fabricant, le fluorimètre YSI sous-estimait fortement la densité des cellules de cyanobactéries (83 - 97 %). Avec l'application de la méthode de calibration *a posteriori* développée en laboratoire à partir de la souche unicellulaire de *Microcystis*, la justesse des estimés est améliorée pour les densités supérieures à 20 000 cellules ml⁻¹ (30 - 48%) et peut servir d'indice pour suivre rapidement le développement des populations de cyanobactéries au lac Saint-Charles. Pendant la période de suivi en 2007, la densité des cellules de cyanobactéries estimée à partir de la FIV (urf) était fortement liée à la densité vraie des cyanobactéries ($r^2 = 0.89$, $P < 0.0001$). La relation obtenue pour la période de suivi en 2008 est relativement moins bonne mais tout de même significative ($r^2 = 0.69$, $P = 0.0015$). Les équations de calibration *a posteriori* développées à partir des densités quantifiées par microscopie pour les deux périodes de suivi en 2007 et 2008 permettent d'améliorer davantage la justesse des estimations de densité des cyanobactéries pour les densités supérieures à 20 000 cellules ml⁻¹ (16 - 22 %). Selon les valeurs de FIV détectées dans la colonne d'eau au lac Saint-Charles en 2007 et calibrées *a posteriori*, le seuil de 20 000 cellules ml⁻¹ était dépassé dans l'épilimnion dès le début du mois de juillet et ce jusqu'au début du mois d'octobre. De plus, la présence de fortes densités de cyanobactéries est détectée dans l'hypolimnion au début de l'automne, ce qui est confirmé par l'analyse microscopique. En 2008, le seuil de 20 000 cellules ml⁻¹ est dépassé dans l'épilimnion du lac Saint-Charles pendant deux périodes en juillet-août et septembre-octobre, mais la population de cyanobactéries est surtout composée de picocyanobactéries qui ne forment pas d'efflorescences nuisibles. Le fluorimètre BBE calibré par le fabricant ne permet pas de détecter la présence de cyanobactéries dans les conditions de l'étude menée au lac Saint-Charles, mais permet de suivre la biomasse totale du phytoplancton.

Introduction

La prolifération de cyanobactéries potentiellement toxiques qui forment des efflorescences dans les plans d'eau constitue une menace importante pour la qualité de la ressource et de l'écosystème (Paerl et Fulton 2006). Depuis les dernières décennies, ce phénomène connaît une augmentation importante à l'échelle mondiale, en parallèle avec l'eutrophisation des plans d'eau (Chen *et al.* 2003, Huisman *et al.* 2005). Les cyanobactéries peuvent produire des toxines ayant un effet néfaste sur la santé et ont été associées à quelques cas de mortalité humaine, menant à la nécessité de suivre le risque qui leur est associé (Carmichael 2001, Codd *et al.* 2005). Toutefois, il est essentiel de suivre la prolifération des cellules de cyanobactéries qui ont un potentiel toxique car ces dernières n'expriment pas leur potentiel toxique en tout temps. De plus, le risque sanitaire associé aux cyanotoxines est difficile à estimer en raison de la variabilité des périodes d'exposition et du manque de connaissances sur l'ensemble des cyanotoxines caractérisées (plus de 90 variantes; Brient *et al.* 2008). Le risque sanitaire associé aux cyanobactéries qui forment des efflorescences nuisibles est influencé par plusieurs facteurs, en particulier par la concentration et le type de toxine ainsi que par la distribution des cellules de cyanobactéries nuisibles dans un plan d'eau.

Le suivi du risque associé aux cyanobactéries est généralement basé sur deux approches complémentaires: le dosage des cyanotoxines et le dénombrement des cellules des différents taxons de cyanobactéries par microscopie. La distribution spatio-temporelle des cyanobactéries qui forment des efflorescences nuisibles peut être complexe. Dans les lacs profonds en zone tempérée, le développement d'efflorescences de cyanobactéries est fréquent en été et en automne, lorsque les conditions climatiques calmes sont associées à de faibles concentrations en nutriments à la surface de l'eau (Oliver et Ganf 2000). La dynamique des populations de cyanobactéries peut être gouvernée par de nombreux facteurs écologiques, tels que la disponibilité de l'énergie lumineuse et des nutriments, les processus de brassage, la compétition, la prédation et le parasitisme (Huisman *et al.* 2005, Oliver et Ganf 2000). Par ailleurs, la densité des cyanobactéries à la surface d'un plan d'eau peut varier rapidement si les effets de la capacité à migrer verticalement sont combinés aux effets des courants et des vents forts (Chorus et Bartram 1999). L'intensité des efflorescences est influencée par la biomasse totale des cyanobactéries dispersées dans la colonne d'eau pendant les périodes de brassage qui ont la capacité de flotter vers la surface lorsque les conditions deviennent plus calmes. Bien que la densité d'une population de cyanobactéries puisse être initialement faible lorsqu'elle est distribuée sur toute la colonne d'eau, les efflorescences de cyanobactéries peuvent atteindre des densités très élevées une fois accumulées à la surface (Huisman et Hulot 2005). Dans ce contexte, l'utilisation d'une méthode de suivi des cyanobactéries dans de nombreuses zones à

risque d'un plan d'eau par microscopie, qui nécessite plusieurs heures d'analyses en laboratoire, s'avère à la fois laborieux, coûteux et limite la rapidité à appliquer des mesures appropriées pour gérer le risque associé aux cyanobactéries nuisibles. Une méthode plus rapide et plus simple à interpréter que l'analyse floristique par microscopie est donc nécessaire pour améliorer les programmes de suivi conventionnels et pouvoir établir un diagnostic en temps quasi réel. De plus, la méthode retenue doit être suffisamment sensible pour permettre de détecter les populations de cyanobactéries avant qu'elles ne deviennent abondantes et forment des efflorescences (Huisman *et al.* 2005).

Un suivi des cyanobactéries basé sur la détection de la FIV du pigment PC a été réalisé avec succès dans le cadre de plusieurs programmes de gestion de la qualité de l'eau (par ex. Gregor *et al.* 2005, 2007, Ahn *et al.* 2007, Brient *et al.* 2008). La détection des propriétés de fluorescence des cellules est une méthode efficace pour suivre les communautés de phytoplancton à une fréquence élevée (Seppälä et Balode 1998). L'utilisation de fluorimètres conçus pour détecter l'intensité de la FIV émise par la Chl-a a été largement réalisée, dès 1966, pour estimer la biomasse totale du phytoplancton et pour caractériser le profil de leur distribution dans la colonne d'eau (Lorenzen 1966). Par la suite, plusieurs études ont été réalisées avec des fluorimètres multi-spectraux afin de distinguer les différents groupes de phytoplancton et les cyanobactéries et estimer leur abondance relative à partir du spectre d'excitation et d'émission de fluorescence de leurs pigments respectifs (par ex. Yentsch et Yentsch 1979, Vincent 1983, Yentsch et Phinney 1985, Poryvkina *et al.* 1994, Millie *et al.* 2002, Beutler *et al.* 2002, 2003). Différents types de détecteurs de FIV submersibles ont été développés pour faire le suivi des cyanobactéries dans les plans d'eau. Certains fluorimètres fournissent des estimés en unité relative de fluorescence (urf) et/ou en fonction d'une calibration développée à partir d'une solution standard de PC (valeurs données en $\mu\text{g PC L}^{-1}$) ou à partir de la FIV d'une ou plusieurs souches unicellulaires de cyanobactéries (valeurs données en cellules ml^{-1} ou $\mu\text{g Chl-a L}^{-1}$ de chacun des quatre groupes spectraux décrits par Beutler *et al.* 2002, 2003). Ainsi, comme les valeurs estimées sont généralement données dans une unité équivalant aux caractéristiques des espèces de référence utilisées pour la calibration de l'appareil, ces estimations doivent être validées par des mesures réalisées en parallèle à l'aide d'une méthode conventionnelle de quantification des cyanobactéries. La conversion des valeurs de densité de cellules de chacun des genres de cyanobactéries dénombrés par microscopie en unité de biovolume ($\mu\text{m}^3 \text{ml}^{-1}$) est nécessaire pour tenir compte de la variation des dimensions spécifiques des taxons identifiés et permet d'exprimer les résultats en fonction de l'espèce de référence. L'étude de Leboulanger *et al.* (2002) réalisée à partir de la méthode développée par Beutler *et al.* (2002) a montré que la calibration de l'appareil avec la signature spectrale de *P. rubescens*, la souche de la cyanobactérie dominante dans le plan d'eau à l'étude (lac Bourget, France), permet de suivre la

distribution spatio-temporelle de la biomasse de cette cyanobactérie à partir de la FIV. Gregor *et al.* (2007) recommandent de suivre la biomasse du phytoplancton eucaryote en parallèle afin d'éviter la détection de résultats faux-positifs lorsque ces derniers sont abondants dans le plan d'eau à l'étude. En présence de forte biomasse de d'autres groupes de phytoplancton possédant le pigment PC dans un écosystème aquatique, l'utilisation de la FIV de la PC pour estimer la densité ou la biomasse des cyanobactéries dans cet écosystème peut être entravée. Les picocyanobactéries et les cryptophycées possèdent également la PC comme pigment majeur (c.-à-d. >10% des pigments totaux, Jeffrey et Mantoura 1997). D'autres études ont montré qu'une analyse fluorimétrique pouvait sous-estimer une population de cyanobactéries malgré leur importance relative confirmée par l'analyse microscopique et attribuer la FIV de la PC détectée au groupe des cryptophycées (Pemberton *et al.* 2007). Toutefois, en absence de d'autres groupes de phytoplancton possédant la PC et d'une importante biomasse de picocyanobactéries, la détection de la FIV attribuée aux groupes spectraux qui possèdent le pigment PC peut être utilisée pour estimer *in situ* la biomasse des cyanobactéries.

Le signal de FIV détecté par un fluorimètre peut être influencé par plusieurs facteurs. Par exemple, la limite de détection, la justesse et la linéarité des valeurs de FIV peuvent varier selon le type de calibration des appareils et les caractéristiques des populations de cyanobactéries à l'étude (voir chapitre 2, MacIntyre *et al.* 2011). Les communautés naturelles de phytoplancton présentent une grande variabilité de propriétés de fluorescence, et de façon plus importante chez les cyanobactéries. Cette variabilité entrave le développement d'une calibration «universelle» du spectre de fluorescence des différents groupes de phytoplancton (Poryvkina *et al.* 2000). Les propriétés de FIV des cellules phytoplanctoniques sont influencées par les caractéristiques des organismes eux-mêmes, notamment l'état physiologique et la configuration de l'assemblage pigmentaire, et par des facteurs environnementaux comme la disponibilité de l'énergie lumineuse et des nutriments (Gregor *et al.* 2007). La détection de la fluorescence peut également être affectée lorsque les cellules de cyanobactéries forment des regroupements denses car la lumière émise par un fluorimètre ne peut atteindre les cellules situées au centre des grandes colonies. De plus, la biomasse des cyanobactéries pourrait être sous-estimée si la fluorescence émise par les cellules est dispersée et réabsorbée par la présence de matières qui absorbent et diffusent la lumière, par ex. l'eau, la matière organique dissoute colorée (MODC), les particules en suspension (Beutler *et al.* 2002, MacIntyre *et al.* 2011). Le signal de la MODC est détecté par les fluorimètres, il doit donc être considéré dans l'analyse des résultats (« blanc » ou « bruit de fond » associés à la couleur de l'eau du lac). Bien que les fluorimètres demeurent des outils complémentaires aux méthodes conventionnelles car leur performance doit être validée en fonction des caractéristiques de chacun des sites d'étude, ils peuvent être

particulièrement utiles pour caractériser rapidement la distribution spatiale des populations de cyanobactéries, mieux choisir à quelle profondeur prélever les échantillons ponctuels analysés selon les méthodes conventionnelles et détecter avec efficacité et à moindre coûts la présence d'espèces à potentiel toxique.

En raison des nombreux facteurs qui peuvent influencer la FIV de la PC détectée dans les écosystèmes aquatiques, il est nécessaire d'évaluer la performance des fluorimètres avant d'intégrer ce type d'outils à un programme de suivi des cyanobactéries dans un plan d'eau utilisé comme ressource d'eau potable par une municipalité. Cette étude a comme objectif d'évaluer, en milieu naturel, la performance des deux fluorimètres (le YSI et le BBE) pour estimer rapidement la densité ou la biomasse des cyanobactéries *in situ* ainsi qu'à évaluer la méthode de calibration *a posteriori* développée en laboratoire. Cette étude vise également à étudier l'évolution spatio-temporelle des cyanobactéries dans la colonne d'eau à partir de la FIV de la PC détectée pendant les périodes de suivi au lac Saint-Charles en 2007 et 2008.

Méthodologie

Site d'étude

Le lac Saint-Charles est situé dans la municipalité des Cantons-Unis de Stoneham-et-Tewkesbury et de l'arrondissement de la Haute-Saint-Charles (46°56'N, 71°23'O), Québec, Canada. Il occupe une ancienne vallée glaciaire située dans la province géologique de Grenville, au sein du bouclier Canadien. Le bassin versant du lac Saint-Charles a une superficie de 165.8 km² et plus de 70% de son territoire est composé de forêts (Légaré 1998, APEL 2009). Le lac Saint-Charles a une superficie de 3.6 km², un volume de 15 x10⁶ m³, une profondeur moyenne de 5.6 m et maximale de 16.5 m. Le lac est formé de deux bassins reliés par une zone peu profonde (< 4 m). Le bassin nord est le bassin principal et le plus profond, avec 51.4% de la surface totale et 70% du volume total. Le débit moyen de l'entrée d'eau dans le bassin nord est de 5.3 m³ s⁻¹ et le taux moyen de renouvellement hydraulique est de 23 jours, mais ces valeurs varient selon la saison. Lorsque la colonne d'eau est thermiquement stratifiée, le taux de renouvellement hydraulique de l'épilimnion est supérieur à celui de l'hypolimnion et une zone anoxique peut se développer dans l'hypolimnion (Légaré 1998). Six baies sont distribuées autour du bassin nord, dont la baie de l'Écho (Fig 3.1, C4), où le premier signalement d'efflorescences de cyanobactérie a eu lieu en octobre 2006 (APEL 2009). À l'extrême nord, environ 10% de la superficie du bassin principal est occupée par un marais. Ce marais sert de milieu récepteur pour les deux principaux affluents du lac, soit la rivière des Hurons qui draine 82% du bassin versant et l'effluent du lac Delage (Légaré 1998). Les deux affluents sont pollués entre autres par les rejets de la station d'épuration des eaux usées de la ville de Lac-Delage et

de la municipalité des cantons-unis de Stoneham-et-Tewkesbury. De plus, les affluents au lac Saint-Charles sont également chargés des rejets issus des nombreuses infrastructures d'épuration d'eau usées individuelles (fosses septiques et champs épurateurs) sur le bassin versant (APEL 2009). L'effluent du bassin sud est perturbé depuis 1934 par la construction d'un barrage qui a haussé le niveau d'eau du lac de 1.5 à 2 mètres (Tremblay *et al.* 2001). Le lac Saint-Charles constitue une réserve d'eau potable pour plus de 230 000 résidents de la ville de Québec (APEL 2009). Une campagne d'échantillonnage visant à faire le suivi des efflorescences de cyanobactéries a potentiel toxique au lac Saint-Charles a été menée à un intervalle de 14 jours des mois de juin à novembre 2007 et à un intervalle de 7 jours de juillet à la fin octobre 2008. L'échantillonnage a été réalisé entre 10h et 14h à deux sites, soit à l'emplacement de la fosse, où le lac atteint la profondeur maximale (C5), et dans un site peu profond de la baie de l'écho (C4) (Figure 3.1). Aux deux sites, des échantillons d'eau de 2 litres ont été récoltés en surface ainsi qu'à intervalles de 2 mètres sur l'ensemble de la colonne d'eau à l'aide d'une bouteille de type van Dorn.

Estimation de la densité ou de la biomasse des cyanobactéries par fluorimétrie *in vivo*

Deux types de fluorimètres submersibles qui détectent le signal de FIV de la PC et de la Chl-a ont été déployés à chacune des stations d'échantillonnage. La fluorescence de l'eau (le blanc de terrain) a été détectée au retour au laboratoire, avec les fluorimètres YSI et BBE, dans un contenant avec un volume de 10 litres d'eau filtrée sur un filtre en fibre de verre (25 mm, MFS), dans le noir. Dix répliqués des mesures de FIV obtenues sont enregistrées après chacun des échantillonnages, puis la moyenne et l'écart-type des valeurs détectées a été calculée pour chacune des années de suivi.

Fluorimètre YSI

Le fluorimètre YSI-6600V2 (YSI Inc., OH, États-Unis) a été déployé de la surface vers le fond et les données enregistrées à un intervalle de 0.5 m. Le YSI estime la densité des cyanobactéries à partir du signal de fluorescence du pigment PC (excitation à 610 nm; détection entre 600 et 700 nm). Le fluorimètre YSI permet également d'estimer la biomasse totale du phytoplancton à partir de la fluorescence de la chl-a (excitation à 470 nm; détection entre 650 et 700 nm) et mesure la profondeur, la température, l'oxygène dissous, le pH et la conductivité. Le fabricant prescrit d'utiliser le YSI calibré avec une souche de cyanobactéries pour des résultats plus précis mais, étant donné la difficulté associée à une telle calibration pour des utilisateurs non équipés (par ex. organismes de bassin versant, municipalités, associations de lac), le suivi au lac Saint-Charles en 2007 et 2008 a été réalisé avec le YSI calibré par le fabricant. Les valeurs estimées à partir de la FIV de la PC ont été rapidement calibrées *a posteriori* à partir de l'équation 1 (chapitre 2). Les valeurs de FIV détectées par le fluorimètre YSI sont exprimées en

unité relative de fluorescence (urf) et en densité cellulaire (cellules ml⁻¹). Les valeurs de densité estimées correspondent à des cellules d'un biovolume équivalent à celui de la souche de cyanobactérie utilisée pour la calibration de l'appareil (biovolume moyen de 23 µm³). Le YSI n'est pas conçu pour tenir compte de la fluorescence de l'eau dans laquelle se trouvent les cellules à détecter. La valeur de la FIV de l'eau du lac (le blanc de terrain) a été soustraite des valeurs de FIV détectées *in situ*.

Fluorimètre BBE

Le Fluoroprobe (BBE-Moldaenke, Kiel, Allemagne) a été déployé trois fois à chacune des stations d'échantillonnage, à une vitesse moyenne de 10 cm s⁻¹. Une mesure est effectuée toutes les deux secondes, ce qui génère un profil à haute résolution de la colonne d'eau. Le fluorimètre BBE utilisé dans cette étude est programmé pour détecter quatre groupes spectraux de phytoplancton à partir de la déconvolution de leur spectre d'excitation spécifique, en présence d'une excitation séquentielle par des diodes électroluminescentes (DEL) émettant à 6 longueurs d'ondes d'excitation (excitation à 370, 470, 525, 570, 590 et 610 nm; détection de la FIV émise entre 680 et 690 nm). Un logiciel (Fluoroprobe 1.9, BBE-Molddaenke) est utilisé pour convertir les valeurs de FIV en biomasse des quatre groupes spectraux de phytoplancton, exprimée en µg Chl-a L⁻¹. Ce type de fluorimètre estime la biomasse totale en unité de Chl-a (µg Chl-a L⁻¹) de chacun des quatre groupes spectraux, à partir de leur spectre de FIV spécifique selon la calibration développée par le fabricant (voir Beutler *et al.* 2002, 2003). L'appareil détecte et tient compte de la MODC dans l'analyse du signal de FIV détecté. La signature spectrale de l'eau du lac (le blanc de terrain) a été enregistrée dans les paramètres de calibration du logiciel de traitement des résultats du BBE avant de générer les estimés de biomasse des cyanobactéries. Le Fluoroprobe mesure également la température de l'eau et la profondeur.

Dépistage des cyanobactéries ayant un potentiel toxique

Des traits verticaux de filet à plancton (mailles de 64 µm) ont été réalisés à chacun des échantillonnages. Les échantillons frais (200 ml; sans fixatif) ont été conservés sur la glace jusqu'au laboratoire et analysés le jour même avec un microscope interférentiel inversé (Axiovert 200, Zeiss) à un grossissement de 400X (parfois 200X) afin de caractériser la composition générale du phytoplancton dans la colonne d'eau, l'abondance relative des taxons et pour détecter la présence ou l'absence de genres de cyanobactéries potentiellement toxiques. Les documents de références utilisés pour l'identification des cyanobactéries et des autres taxons de phytoplancton sont Cronberg et Annadotter (2006), Komárek et Anagnostidis (1998), Komárek et Anagnostidis (2005), Wehr et Sheath (2003).

Quantification de la densité et du biovolume

À partir des échantillons d'eau prélevés au lac Saint-Charles, un volume de 125 ml d'eau a été conservé avec une solution de lugol (1% concentration finale) pour l'analyse floristique. Les cellules de phytoplancton ont été identifiées, mesurées et dénombrés avec microscope inversé (Axiovert 200, Zeiss) en mode de contraste de phase interférentiel, à un grossissement de 50X, 200X et 400X après concentration d'un volume connu (10 à 50 ml) par sédimentation (Utermöhl 1958). Le décompte d'au moins 400 cellules par échantillon assure la validité statistique des résultats ($\pm 10\%$ à un seuil de confiance de 95%, Venrick 1978). L'abondance des différents taxons est calculée à partir de l'équation suivante :

$$[\text{cell}] = \text{Nbr}/(\underline{a}/\underline{A}) * \underline{V} \text{ où } a = C_{50X} * (R_{50X})^2 * \pi + C_{200X} * (R_{200X})^2 * \pi + C_{400X} * (R_{400X})^2 * \pi$$

où [cell] est la densité cellulaire (cellules ml⁻¹), Nbr la quantité de cellules d'un taxon, a la superficie dénombrée, A la superficie totale de la chambre de sédimentation, V le volume de l'échantillon sédimenté, C_{50X}, C_{200X} et C_{400X} les champs dénombrée à 50X, 200X et 400X respectivement, R_{50X}, R_{200X} et R_{400X} le rayon des différents champs (Bouchard-Valentine 2004). Pour chacun des taxons dénombrés, les dimensions de 40 cellules ont été mesurées puis converties en biovolume (ou biomasse fraîche, $\mu\text{m}^3 \text{ ml}^{-1}$) à partir des équations proposées par Sun et Liu (2003) et en assumant une densité spécifique égale à 1 (Lewis 1976). La densité « équivalente » des cyanobactéries est calculée en divisant le biovolume total des différents taxons de cyanobactéries par le biovolume équivalent à celui de la souche de référence utilisée pour calibrer l'appareil. La cyanobactérie utilisée dans cette étude comme souche de référence est *Microcystis*, une souche unicellulaire ayant un biovolume moyen de 23 μm^3 (voir le chapitre 2).

Quantification de la biomasse totale

Pour chacune des dilutions analysées par FIV, un sous-échantillon a été préparé pour le dosage de la biomasse totale. Un volume connu (250 à 500 ml, en triplicata) a été concentré par filtration, sous un éclairage tamisé, sur un filtre en fibre de verre (25 mm, MFS) et immédiatement entreposé à -80°C jusqu'à l'extraction de la chlorophylle-a (Chl-a). La biomasse totale a été dosée après une extraction à l'éthanol chaud (Nusch 1980) et une lecture de fluorescence de la Chl-a mesurée par spectrofluorimétrie, avant et après acidification (Sartory et Grobbelaar 1984).

Analyses statistiques

Les régressions linéaires et leur coefficient de détermination (R^2) sont obtenus avec le logiciel Sigma Plot (version 8.0).

Résultats

Estimation de la densité des cyanobactéries avec le fluorimètre YSI en milieu naturel

Justesse et linéarité des valeurs de densités cellulaires estimées selon les types de calibration

La FIV de la PC détectée par le fluorimètre YSI au lac Saint-Charles pendant les périodes de suivi en 2007 (Figure 3.2) et 2008 (Figure 3.3) est exprimée selon trois types de calibration, en fonction de la densité « équivalente » des cyanobactéries quantifiée par microscopie (en unité de cellules de *Microcystis* équivalente). Avec le YSI calibré par le fabricant, les valeurs de densité des cellules de cyanobactéries détectées sont fortement sous-estimées, de un à deux ordres de grandeur, mais les valeurs estimées en 2007 sont fortement liées à la densité « équivalente » des cyanobactéries (Figure 3.2 A, cercles noirs; $y = 74x - 61164$, $r^2 = 0.89$, $P < 0.0001$, $n = 11$). La relation obtenue pour la période de suivi en 2008 est moins forte et les valeurs sont sous-estimées d'un ordre de grandeur (Figure 3.3 A, cercles noirs; $y = 56x - 65629$, $r^2 = 0.69$, $P = 0.0015$, $n = 11$). Les valeurs de la FIV de la PC (urf) détectées avec le YSI calibré par le fabricant et calibrées *a posteriori* à partir de l'équation 1 (voir chapitre 2) se rapprochent des valeurs « équivalentes » quantifiées pour 2007 (Figure 3.2 B, cercles bleus; $y = 1.02x - 19026$, $r^2 = 0.87$, $P < 0.0001$, $n = 11$) et 2008 (Figure 3.3 B, cercles bleus; $y = 0.56x + 11810$, $r^2 = 0.76$, $P = 0.0005$, $n = 11$). Une nouvelle équation de calibration *a posteriori* de la FIV de la PC détectée au lac Saint-Charles est développée, pour chacune des années de suivi, à partir de la relation avec la densité « équivalente » des échantillons récoltés *in situ* aux différentes profondeurs dans la colonne d'eau.

$$[\text{densité « équivalente » 2007}] = 174014 * [\text{FIV de la PC en urf}] - 971 \quad (\text{Équation 2})$$

$$[\text{densité « équivalente » 2008}] = 98971 * [\text{FIV de la PC en urf}] - 9031 \quad (\text{Équation 3})$$

Les valeurs de la FIV de la PC (urf) calibrées *a posteriori* à partir de l'équation 2 pour l'année 2007 et de l'équation 3 pour 2008 se rapprochent des valeurs « équivalentes » quantifiées par microscopie (Figure 3.2 B, cercles blancs; $y = x + 0.22$, $r^2 = 0.87$, $P < 0.0001$, $n = 11$ et Figure 3.3 B, cercles blancs; $y = x - 0.41$, $r^2 = 0.76$, $P = 0.0005$, $n = 11$).

Pour chacune des séries de données présentées aux figures 3.2 et 3.3, l'erreur relative (%) moyenne a été calculée pour les classes de densités entre 5000 et 20 000 cellules ml^{-1} et entre 20 000 et 100 000 cellules ml^{-1} (Tableau 3.1). Toutefois, les valeurs de densité inférieures à 8000 cellules ml^{-1} sont situées sous la limite de détection de la méthode (LDM) et les valeurs entre 8000 et 20 000 cellules ml^{-1} sont considérées comme semi-quantitatives car elles sont situées sous la limite de quantification de la méthode (LQM) ayant été établies pour l'appareil utilisé dans cette étude en présence de formes coloniales de cyanobactéries (voir chapitre 2).

Avec la calibration du fabricant, l'erreur relative moyenne entre les valeurs de densités estimées par le YSI calibré par le fabricant et les valeurs vraies est élevée (83 à 97%). Après l'application rapide de la méthode de calibration *a posteriori* développée en laboratoire (équation 1), l'erreur relative (%) moyenne demeure élevée pour les densités entre 5000 et 20 000 cellules ml⁻¹ (2007: 417% et 2008: 51%). Par contre, l'équation 1 permet de diminuer l'erreur relative moyenne pour les densités supérieures à la LQM, soit entre 20 000 et 100 000 cellules ml⁻¹ (2007: 48% et 2008: 30%). La seconde méthode de calibration *a posteriori* développée à partir des valeurs « équivalentes » quantifiées par microscopie pour les échantillons récoltés *in situ* (équation 2 pour 2007 et équation 3 pour 2008) permet d'améliorer les estimés obtenus avec la méthode rapide, mais l'erreur relative moyenne demeure élevée pour les densités entre 5000 et 20 000 cellules ml⁻¹ (2007: 267% et 2008: 34%) alors qu'elle diminue de façon satisfaisante pour les densités supérieures à la LQM, entre 20 000 et 100 000 cellules ml⁻¹ (2007: 22% et 2008: 16%).

Estimation de la biomasse du phytoplancton avec le fluorimètre YSI en milieu naturel

Justesse et linéarité des valeurs de biomasse estimées selon la calibration du fabricant

Les estimés de biomasse totale du phytoplancton détectés *in situ* à partir de la FIV de la Chl-a par le fluorimètre YSI sont sous-estimés mais ils sont toutefois liés à la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie pour 2007 (Figure 3.4 A, cercles noirs; $y = 2.3 x - 0.6$, $r^2 = 0.68$, $P < 0.0001$, $n = 49$) et 2008 (Figure 3.4 B, cercles noirs; $y = 1.5 x + 0.9$, $r^2 = 0.73$, $P < 0.0001$, $n = 82$). L'équation développée à partir des estimées de biomasse totale pour chacune des années peut être utilisée pour corriger les valeurs estimées à partir de la FIV de la Chl-a (Figure 3.4 A et B, cercles blancs).

Estimation de la biomasse des cyanobactéries avec le fluorimètre BBE en milieu naturel

Justesse et linéarité des valeurs de biomasse estimées selon la calibration du fabricant

Les valeurs de biomasse estimées à partir de la FIV de la Chl-a détectée par le fluorimètre BBE *in situ* et dont la densité des cellules a été validée par microscopie pour chacune des périodes de suivi en 2007 (Figure 3.5) et 2008 (Figure 3.6) sont présentées pour A) les cyanobactéries seulement, B) les groupes spectraux des cyanobactéries et des cryptophytes et C) la biomasse totale de l'ensemble des groupes spectraux de phytoplancton, et sont exprimées en fonction de la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie. Bien que les échantillons analysés sont composés d'une gamme de densité de cyanobactéries (mêmes séries qu'aux figures 3.2 et 3.3), la relation entre la biomasse des cyanobactéries estimée par le BBE et biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie est très faible en 2007 (Figure 3.5, cercles noirs; $y = -1.26 x + 9$, $r^2 = 0.04$, $P = 0.8$, $n = 10$) ainsi qu'en 2008 (Figure 3.6, cercles noirs; $y = 2.9 x + 6.4$, $r^2 = 0.01$,

$P = 0.8$, $n = 10$). La biomasse cumulée des deux groupes spectraux de phytoplancton qui possèdent la PC (cyanobactéries + cryptophycées) a également été analysée, mais la relation avec biomasse totale demeure très faible en 2007 (Figure 3.5, carrés noirs; $y = -0.74 x + 11$, $r^2 = 0.13$, $P = 0.3$, $n = 10$) et en 2008 (Figure 3.6, carrés noirs; $y = 8.8 x + 3.8$, $r^2 = 0.39$, $P = 0.053$, $n = 10$). Pour ces mêmes série de données, la biomasse totale de l'ensemble des groupes spectraux de phytoplancton est davantage liée à la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie en 2007 (Figure 3.5, triangles noirs; $y = 0.96 x + 0.8$, $r^2 = 0.60$, $P = 0.008$, $n = 5$) et en 2008 (Figure 3.6, triangles noirs; $y = 0.6 x + 3.6$, $r^2 = 0.45$, $P = 0.03$, $n = 10$). Cette analyse a été répétée pour l'ensemble des valeurs de biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie. Les relations développées pour la biomasse totale de l'ensemble des groupes spectraux de phytoplancton sont modérément fortes pour 2007 (Figure 3.7 A; $y = 0.7 x + 0.4$, $r^2 = 0.66$, $P < 0.0001$, $n = 53$) et pour 2008 (Figure 3.7 B; $y = 1.2 x + 0.5$, $r^2 = 0.74$, $P < 0.0001$, $n = 114$).

Suivi de la distribution spatio-temporelle des cyanobactéries au lac Saint-Charles

Suivi des cyanobactéries dans la colonne d'eau avec le fluorimètre YSI

Les valeurs de densité des cellules de cyanobactéries estimées par le YSI à partir de la de FIV de la PC détectée au lac Saint-Charles en 2007 et 2008 ont été corrigées à l'aide des équations de calibration *a posteriori* développées précédemment, puis ont été utilisées pour illustrer l'évolution temporelle de la densité des cyanobactéries dans la colonne d'eau au site de plus profond du lac. La méthode de calibration *a posteriori* développée en laboratoire à partir de la souche unicellulaire de *Microcystis* (équation 1) a d'abord été appliquée aux valeurs des deux années (Figure 3.8 A et Figure 3.9 A). La seconde méthode de calibration *a posteriori* développée à partir des valeurs « équivalentes » dénombrées par microscopie, pour chacune des deux périodes de suivi en 2007 et 2008 (respectivement l'équation 2 et 3), a ensuite été appliquée (Figure 3.8 B et Figure 3.9 B). Selon l'échelle de coloration utilisée aux figures 3.8 et 3.9, plus la coloration tend vers le bleu, plus les cyanobactéries sont abondantes. Les densités de cellules illustrées par les colorations rouges et oranges se situent sous LQM établie pour l'appareil (au chapitre 2), elles sont donc des valeurs semi-quantitatives.

Selon les résultats obtenus avec la sonde YSI et calibrés *a posteriori* à l'aide de l'équation 2, une densité de cellules cyanobactériennes supérieure à 20 000 cellules ml^{-1} est détectée dans l'épilimnion du lac Saint-Charles du 5 juillet au 10 octobre 2007. De plus, entre le 13 septembre et le 10 octobre 2007, une densité élevée de cyanobactéries est observée dans l'hypolimnion (Figure 3.8 B) mais l'analyse microscopique a montré la présence du genre *Aphanocapsa*. En 2008, le seuil de 20 000 cellules ml^{-1} est dépassé dans l'épilimnion du 8 juillet au 19 août et du 3

septembre au 14 octobre selon les résultats obtenus avec la sonde YSI calibrés *a posteriori* à l'aide de l'équation 3. Une densité de 20 000 cellules ml⁻¹ de cyanobactéries est également observée dans l'hypolimnion entre le 19 août et le 26 octobre 2008 (Figure 3.9 B), mais ce sont surtout des cyanobactéries du genre *Pseudoanabaena* qui composent cette population.

Structure de la communauté phytoplanctonique pendant les périodes de suivi

La communauté de phytoplancton du lac Saint-Charles, caractérisée à partir des échantillons récoltés *in situ* et analysés par microscopie, est dominée par le groupe des cyanobactéries pendant les mois d'août et septembre en 2007 (Figure 3.10 A). D'autres groupes de phytoplancton sont abondants au début de la saison estivale et à l'automne dès le début du mois d'octobre, en particulier le groupe des chrysophycées. Par ailleurs, le groupe des cryptophycées, qui possède également le pigment PC, est demeuré peu abondant. Les genres de cyanobactéries qui forment des efflorescences sont particulièrement abondants pendant les mois d'août et septembre 2007, période pendant laquelle ils dominent la communauté de cyanobactéries au lac Saint-Charles (Figure 3.11 A). Les espèces qui forment ces efflorescences sont *M. aeruginosa* et *Anabaena* cf. *flos-aquae* (Figure 3.12 A). La présence d'hétérocystes chez *A. flos-aquae* (Figure 3.12 B) indique que cette espèce peut fixer l'azote atmosphérique, ce qui favorise sa croissance. Par ailleurs, du début de la saison estivale jusqu'à la fin du mois de juillet ainsi qu'en automne dès le mois d'octobre, la population de cyanobactéries est dominée par un groupe de cyanobactéries qui ne forment pas d'efflorescences, les picocyanobactéries (*Aphanocapsa*, *Aphanothece*; Figure 3.11 A).

Dans la baie de l'Écho du lac Saint-Charles, la densité de *M. aeruginosa* atteint 1 000 000 cellules ml⁻¹ le 26 septembre 2007 (Figure 3.13). La concentration de cyanotoxines dosée pour cette efflorescence (0.6 µg L⁻¹ de microcystine-LR, CEAEQ 2007a) est demeurée inférieure au critère de qualité pour l'eau potable, fixé à 1.5 µg L⁻¹ de microcystine-LR (INSPQ 2005). Le seuil de toxicité a par contre été dépassé au lac Saint-Charles le 17 août dans le bassin sud, où les cyanotoxines dosées sont associées à une accumulation de cyanobactéries de plus de 2 000 000 cellules ml⁻¹ (6.2 µg L⁻¹ de microcystine-LR; CEAEQ 2007a).

En 2008, la communauté phytoplanctonique du lac Saint-Charles est dominée par des chrysophycées, un groupe de phytoplancton eucaryote (Figure 3.10 B). La communauté de cyanobactéries formant des efflorescences est généralement demeurée peu abondante pendant toute la période de suivi bien que de fortes densités aient été observées près des rives à la fin du mois de septembre et au début du mois d'octobre sans toutefois devenir dominantes (Figure 3.11 B). Ce sont les picocyanobactéries qui ont été les cyanobactéries les plus abondantes en 2008 (*Aphanocapsa*, *Aphanothece*). La liste des taxons de phytoplancton identifiés au lac Saint-Charles en 2007 et 2008 est présentée à l'annexe A.

Discussion

Estimation de la densité des cyanobactéries avec le fluorimètre YSI en milieu naturel

Dans cette étude, la performance de fluorimètres pour estimer rapidement la densité ou la biomasse des cyanobactéries *in situ* a été comparée aux résultats obtenus avec des méthodes conventionnelles de suivi. Avec la calibration du fabricant, la densité des cellules de cyanobactéries détectées au lac Saint-Charles avec le fluorimètre YSI est grandement sous-estimée de un à deux ordres de grandeur, de façon similaire aux analyses réalisées en laboratoire avec la souche unicellulaire de *Microcystis* au deuxième chapitre de ce mémoire. Ce type de calibration, qui pourrait être utilisé par les gestionnaires et les intervenants qui ne disposent pas des infrastructures et des techniciens qualifiés pour développer des méthodes de calibration *a posteriori* pour chaque appareil et en fonction des caractéristiques des plans d'eau à l'étude, ne permet pas de suivre le dépassement des seuils de densité proposés pour l'évaluation du risque (voir chapitre 1, OMS 1998, Chorus et Bartram 1999, MDDEP 2010). Ce type de fluorimètre calibré par le fabricant ne fournit qu'une analyse qualitative si une validation et une correction *a posteriori* des valeurs n'est pas réalisée (Bastien *et al.* 2011).

Toutefois, les valeurs de FIV de la PC détectées *in situ* pendant la période de suivi en 2007 sont fortement liées à la densité « équivalente » des cyanobactéries, alors que la relation obtenue pour la période de suivi en 2008 est moins forte. Il est possible que ce soit dû au fait que la communauté de cyanobactéries est moins abondante pendant cette période, la justesse des estimés étant moins grande aux plus faibles densités. La méthode de calibration *a posteriori* développée en laboratoire pour la souche unicellulaire de *Microcystis* (équation 1) a été appliquée aux valeurs détectées *in situ* afin de vérifier sa validité pour faire le suivi rapide des cyanobactéries. Cette calibration *a posteriori* permet d'améliorer rapidement la justesse des estimés réalisés à partir de la FIV de la PC, c'est-à-dire que les valeurs corrigées sont plus près du ratio 1 pour 1. Toutefois, bien que la relation entre la densité quantifiée par microscopie et les estimés de FIV soit plus juste que celle mesurée en laboratoire en présence de la souche coloniale de *Microcystis*, l'erreur relative moyenne demeure élevée. Les résultats montrent que l'utilisation de la calibration développée en laboratoire surestime les cyanobactéries au lac Saint-Charles en 2007, avec une erreur relative moyenne de 48% entre 20 000 et 100 000 cellules ml⁻¹, tandis que l'erreur relative moyenne est de 30% pour les valeurs entre 20 000 et 100 000 cellules ml⁻¹ estimées en 2008.

La seconde méthode de calibration *a posteriori* développée à partir de la densité « équivalente » des cyanobactéries est cependant nécessaire pour valider l'estimation rapide basée sur l'équation 1, car les valeurs détectées pourraient être sous-estimées en présence de formes coloniales de cyanobactéries (voir chapitre 2), comme c'est généralement le cas en milieu

naturel. En effet, l'agrégation des cellules en colonies plus ou moins volumineuses peut également affecter la détection de la fluorescence car la lumière d'excitation émise par un fluorimètre ne peut atteindre les cellules situées au centre des grandes colonies et la fluorescence émise par les cellules peut être dispersée et réabsorbée, entraînant une sous-estimation de la biomasse (Asai *et al.* 2000, Wu et Song 2008). La densité des échantillons récoltés *in situ* et quantifiés par microscopie, pour les deux périodes de suivi au lac Saint-Charles, a été utilisée pour valider et optimiser les estimés. Cette seconde application d'une calibration *a posteriori* permet d'améliorer la justesse des estimés obtenus avec le fluorimètre YSI pour les densités supérieures au seuil de 20 000 cellules ml⁻¹, avec une erreur relative moyenne de 22% en 2007 et 16% en 2008. En tenant compte de l'erreur relative moyenne dans l'interprétation des estimés de cyanobactéries, le seuil de gestion du risque tel que détecté avec ce type de calibration *a posteriori* pourrait être atteint dans la gamme de densité de 15 600 à 24 400 cellules ml⁻¹ en 2007 et de 16 800 à 23 200 cellules ml⁻¹ en 2008.

Une forte relation entre la FIV de la PC détectée par un fluorimètre et la densité des cellules de cyanobactéries a été observée dans d'autres études menées dans des écosystèmes aquatiques d'eau douce (Asai *et al.* 2001, Ahn *et al.* 2007, Brient *et al.* 2008). Par exemple, Brient *et al.* (2008) ont observé une corrélation modérément forte ($r = 0.74$, $P < 0.01$) dans une étude réalisée sur 35 plans d'eau eutrophes en France, dont 50% étaient dominés par les cyanobactéries et où aucun taxon de phytoplancton eucaryote possédant le pigment PC n'a été identifié.

Estimation de la biomasse des cyanobactéries avec le fluorimètre BBE en milieu naturel

La performance d'un fluorimètre multi-spectral pour faire le suivi rapide de la biomasse des cyanobactéries *in situ* a été vérifiée à partir des résultats obtenus avec des méthodes conventionnelles de détection. Bien que la présence de cyanobactéries ait été confirmée par l'analyse floristique par microscopie et que la FIV de la PC ait été détectée par le YSI pour les mêmes points d'échantillonnages, le fluorimètre BBE calibré par le fabricant n'attribue pas le signal de FIV détecté *in situ* au groupe spectral des cyanobactéries, autant pendant la période de suivi en 2007 qu'en 2008. Les fluorimètres qui détectent la FIV émise par Chl-a peuvent sous-estimer la biomasse du groupe spectral bleu (Gregor et Marsalek 2005, Gregor *et al.* 2005) car chez les cyanobactéries, les complexes antennaires qui assurent la captation de la lumière sont surtout composés de pigments phycobiliprotéines et les pigments chlorophylle-a sont peu abondants dans le photosystème II. Ainsi, la FIV de la Chl-a contribue peu au spectre de FIV du photosystème II (MacIntyre *et al.* 2011), dont le signal est détecté par les appareils équipés de détecteur de la fluorescence émise vers 680 nm. Par ailleurs, dans une étude menée au lac Ontario par Pemberton *et al.* (2007), l'estimation des cyanobactéries obtenue avec un

fluorimètre BBE n'était pas corrélée aux analyses microscopiques: les cyanobactéries étaient sous-estimées malgré leur importance relative et la FIV détectée était attribuée à un autre groupe de phytoplancton, les cryptophycées, un groupe de phytoplancton qui possède également le pigment PC. Plusieurs auteurs recommandent de suivre la biomasse du phytoplancton eucaryote afin d'éviter la détection de résultats faux-positifs lorsque ces derniers sont abondants (Gregor *et al.* 2007, MacIntyre *et al.* 2011). Les séries de données détectées au lac Saint-Charles ont donc été analysées afin de vérifier que la biomasse des cryptophycées n'était pas surestimée par le BBE. Toutefois, le cumul des valeurs de biomasse attribuées au groupe des cryptophycées aux valeurs de biomasse cyanobactérienne estimées par l'appareil ne permet pas d'améliorer la relation avec les valeurs de densité ou de biomasse totale quantifiées selon les méthodes conventionnelles.

Comme il n'y a pas de relation entre les valeurs de cyanobactéries estimées par le BBE et la densité « équivalente » quantifiée par microscopie, une méthode de calibration *a posteriori* n'a pu être développée pour cet appareil. Pour une utilisation optimale du fluorimètre BBE et une détection adéquate du groupe des cyanobactéries, il serait sans doute approprié d'obtenir les signatures spectrales des différents groupes spectraux de phytoplancton qui dominent le milieu à l'étude (voir Lebourlangier *et al.* 2002) mais cette calibration pourrait induire des erreurs si les cyanobactéries ne dominent pas la communauté de phytoplancton. La modification de la calibration d'un seul groupe spectral entrave la détection et l'estimation de l'abondance relative des autres groupes de phytoplancton car l'algorithme permettant de transformer la FIV détectée en biomasse considère les propriétés de fluorescence des quatre groupes spectraux comme interreliées (voir MacIntyre *et al.* 2011). D'autres études ont confirmé l'utilité de ce type de détecteurs de FIV pour suivre les populations de cyanobactéries dans les plans d'eau où elles dominent la communauté de phytoplancton. Par exemple, les estimés de biomasse des cyanobactéries détectés dans un réservoir d'eau (République tchèque) à l'aide du fluorimètre BBE étaient corrélés à densité des cyanobactéries dénombrées par microscopie ($y = 7 * 10^{-5} x$, $r^2 = 0.86$; Gregor *et al.* 2005). L'étude de Gregor *et al.* (2007) a par la suite démontré que la FIV détectée par le fluorimètre BBE est confirmée par la FIV détectée par un fluorimètre de laboratoire (excitation à 590 nm et émission vers 680 nm). La fluorescence relative (urf) estimée à partir de ce fluorimètre de laboratoire est elle-même fortement corrélée à la densité mesurée par microscopie, entre 2000 et 70 000 cellules ml^{-1} ($r = 0.96$ pour les échantillons prélevés à 10 mètres, $r = 0.88$ pour les autres échantillons), et modérément corrélée lorsque la densité est inférieure à 2000 cellules ml^{-1} ($r = 0.67$). L'utilisation de cet appareil nécessite donc un affinement du programme de déconvolution des signatures spectrales ou encore l'établissement des signatures spectrales propres à chacun des groupes spectraux majeurs d'un lac donné.

Estimation de la biomasse totale du phytoplancton en milieu naturel

Lorsque les cyanobactéries dominent la communauté de phytoplancton, la détection de la biomasse totale à partir de la FIV de la Chl-a peut être utilisée pour faire leur suivi. Dans les conditions de cette étude, bien que le fluorimètre BBE ne permet pas de suivre les cyanobactéries à partir de leur spectre de FIV spécifique, cet appareil permet de suivre la biomasse totale du phytoplancton lorsque l'ensemble des groupes spectraux détectés sont cumulés. Les relations développées pour la biomasse totale du phytoplancton détectée par le BBE sont modérément fortes et les valeurs estimées sont près du ratio 1 pour 1 pour les deux années de suivi. Par ailleurs, les relations obtenues par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant à partir de la FIV de la Chl-a sont aussi fortes que celles développées avec le fluorimètre BBE, mais les valeurs de biomasse sont toutefois sous-estimées, d'un facteur de 2 pour 2007 et d'un facteur de 1.5 pour 2008. L'étude de Gregor *et al.* (2005), réalisée à l'aide d'un fluorimètre BBE, a également montré une sous-estimation de la biomasse totale du phytoplancton détectée dans un réservoir d'eau bien que la relation avec l'analyse spectrofluorimétrique soit forte ($y = 0.74 x$, $r^2 = 0.91$; Gregor *et al.* 2005). Les résultats obtenus dans cette étude avec le BBE sont davantage semblables à ceux obtenus par Ghadouani et Smith (2005) dans l'épilimnion du lac Érié (Ontario), qui ont montré que les estimés de biomasse totale du phytoplancton étaient fortement corrélés à la Chl-a quantifiée à partir de l'analyse conventionnelle et près du ratio 1 pour 1 (pour les valeurs supérieures à $1 \mu\text{g L}^{-1}$: $r^2 = 0.89$, $P < 0.0001$). L'utilisation de la FIV de la Chl-a comme indice de suivi du risque associé aux cyanobactéries n'est valide que si tout autre groupe de phytoplancton est très peu abondant.

Suivi de la distribution spatio-temporelle des cyanobactéries au lac Saint-Charles

À la suite de l'application d'une méthode de calibration *a posteriori* sur l'ensemble des valeurs de FIV de la PC détectées au lac Saint-Charles avec le fluorimètre YSI, le suivi des cyanobactéries peut être effectué sur l'ensemble de la colonne d'eau et en fonction du temps (les figures 3.8 et 3.9 présentent le patron au site où le lac est le plus profond). Il est nécessaire de rappeler que la densité des cyanobactéries estimée par le YSI correspond à une densité de cyanobactéries dont le biovolume moyen des cellules est équivalent à celui de la souche de référence utilisée pour la calibration de l'appareil (en l'occurrence, *Microcystis unicellulaire*). Tel que discuté plus haut, lorsque l'erreur relative moyenne est considérée dans l'interprétation des estimés, le seuil de gestion du risque pourrait être atteint dès $15\,600 \text{ cellules ml}^{-1}$ en 2007 et dès $16\,800 \text{ cellules ml}^{-1}$ en 2008. Par ailleurs, les valeurs détectées dans l'hypolimnion pourraient être surestimées car le rendement de fluorescence par unité de cellule est généralement plus élevé que dans la colonne d'eau, étant donné qu'à ces profondeurs la photosynthèse est plus faible, laissant une plus grande proportion de l'énergie lumineuse à être

réémise sous forme de fluorescence. Par exemple, l'étude de Gregor *et al.* (2007) a montré que le rendement de fluorescence par unité de cellule était 50 % plus élevé aux profondeurs de 30 et 50 mètres qu'à 10 mètres sous la surface de l'eau.

Selon les profils de FIV réalisés au lac Saint-Charles en 2007, le seuil de densité de 20 000 cellules ml^{-1} est dépassé dans l'épilimnion dès le début du mois de juillet et jusqu'au premier tiers du mois d'octobre. De plus, la présence de fortes densités de cyanobactéries est observée dans l'hypolimnion au début de l'automne, ce qui est confirmé par l'analyse microscopique réalisée sur les échantillons récoltés *in situ*. Le genre dominant cette accumulation hypolimnétique de picocyanobactéries est *Aphanothece*. En 2008, le seuil de 20 000 cellules ml^{-1} est dépassé dans l'épilimnion à deux reprises en juillet-août et septembre-octobre, mais ce sont surtout les picocyanobactéries du genre *Aphanocapsa* qui composent cette communauté. La FIV de la PC détectée par le fluorimètre YSI permet de suivre la densité des cyanobactéries *in situ* lorsque les picocyanobactéries ou d'autres groupes phytoplancton qui possèdent le pigment PC sont peu ou pas abondants. Le suivi de l'évolution temporelle de l'abondance des cyanobactéries au lac Saint-Charles ainsi que la localisation rapide (selon l'analyse des valeurs qualitatives) des accumulations de cellules dans la colonne d'eau permettent d'effectuer un échantillonnage plus ciblé du plan d'eau. Bien que le YSI puisse estimer la densité des cyanobactéries, ce type d'appareil ne peut distinguer les espèces ayant un potentiel toxique des autres espèces non-toxiques si ces dernières possèdent les mêmes pigments caractéristiques. En effet, plusieurs espèces de cyanobactéries peuvent avoir un spectre d'absorption semblable mais une toxicité variable (Schofield *et al.* 1999). Ces outils demeurent donc complémentaires à l'analyse taxonomique et à l'analyse des toxines. Toutefois, la FIV permet d'identifier les périodes critiques où le seuil de 20 000 cellules ml^{-1} est dépassé dans le plan d'eau, seuil au-delà duquel l'Organisation mondiale de la santé recommande d'éviter la baignade (OMS 1998) et identifié par certains comme néfaste pour la santé (Oliver et Ganf 2000). Le MDDEP identifie d'ailleurs les lacs comme « touchés » par une fleur d'eau d'algue bleu-vert lorsque ce seuil est dépassé (MDDEP 2010).

Les cyanobactéries ont dominé la communauté de phytoplancton au lac Saint-Charles pendant les mois d'août et septembre 2007. Pendant cette période, la cyanobactérie *M. aeruginosa*, une espèce qui forme des efflorescences à potentiel toxique, est la plus abondante. Les efflorescences de *Microcystis* ont été associées à la présence de cyanotoxines, mais le dépassement du seuil de toxicité n'a été détecté qu'une seule fois pendant toute la période de floraison des cyanobactéries. Toutefois, ces tests de toxicité n'ont pas été réalisés de façon routinière, ne permettant pas d'exclure un dépassement de seuil plus fréquent. L'assemblage de la communauté de cyanobactéries dans l'épilimnion varie au cours de l'été et de l'automne.

L'analyse du risque associé aux cyanobactéries basée sur la densité des cellules ou sur la biomasse totale de la cyanobactérie *Microcystis* (voir Tableau 1.1) doit également être complétée par une analyse microscopique pour tenir compte de cette diversité car plusieurs genres ne forment pas d'efflorescences nuisibles ou ne produisent pas de toxines. Par exemple, la cyanobactérie *Aphanocapsa*, qui ne forme pas d'efflorescences, est abondante pendant les mois de juin et octobre 2007. Toutefois, cette cyanobactérie a été associée à la production de toxines (Domingos *et al.* 1999) et devrait donc faire l'objet d'un suivi. Par ailleurs, la communauté de phytoplancton a été dominée par le groupe des chrysophycées pendant le mois de juin ainsi qu'après le 10 octobre en 2007. En 2008, la communauté de phytoplancton a été dominée le groupe des chrysophycées pendant toute la période de suivi et les cyanobactéries sont généralement demeurées peu abondantes. La communauté des cyanobactéries a été dominée par des picocyanobactéries en 2008, principalement par des genres qui ne forment pas d'efflorescences tels que *Aphanocapsa* et *Aphanothece*. L'espèce *M. aeruginosa* est généralement demeurée peu abondante, mais des accumulations de plus de 100 000 cellules ml⁻¹ ont été quantifiées, par exemple dans la baie de l'Écho le 19 septembre 2008. Puisque la présence de cryptophycées est demeuré faible pendant les deux périodes de suivi au lac Saint-Charles, la FIV de la PC détectée *in situ* peut être associée à la présence des cyanobactéries qui forment des efflorescences lorsque les picocyanobactéries sont également peu abondantes.

Figure 3.1 Localisation des stations d'échantillonnage sur le lac Saint-Charles pendant les périodes d'échantillonnages en 2007 et 2008. Les sites C4 et C5 sont étudiés dans cette étude ainsi que dans celle de Bourget (2010).

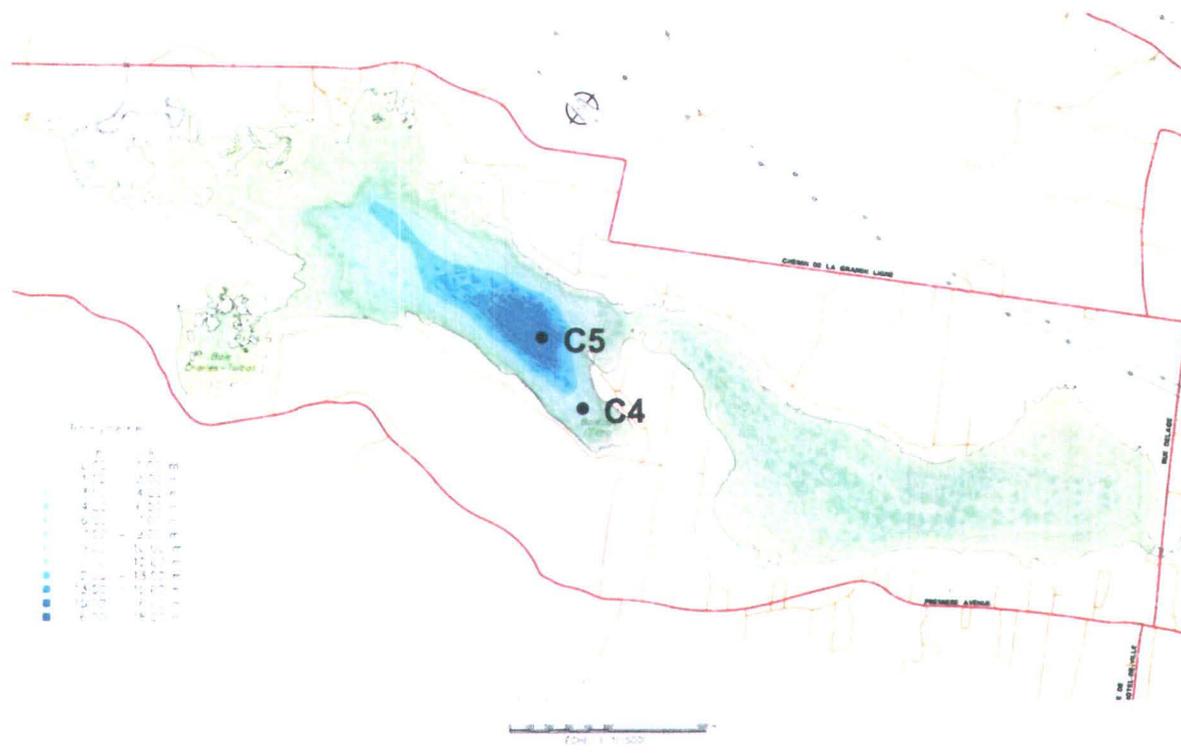


Figure 3.2 Relations entre la densité des cellules de cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant et la densité «équivalente» quantifiée par microscopie. A) Valeurs mesurées au lac Saint-Charles en 2007 (cercles noirs) et B) ces mêmes valeurs après la calibration *a posteriori* avec l'équation 1 (cercles bleus) ou l'équation 2 (cercles blancs).

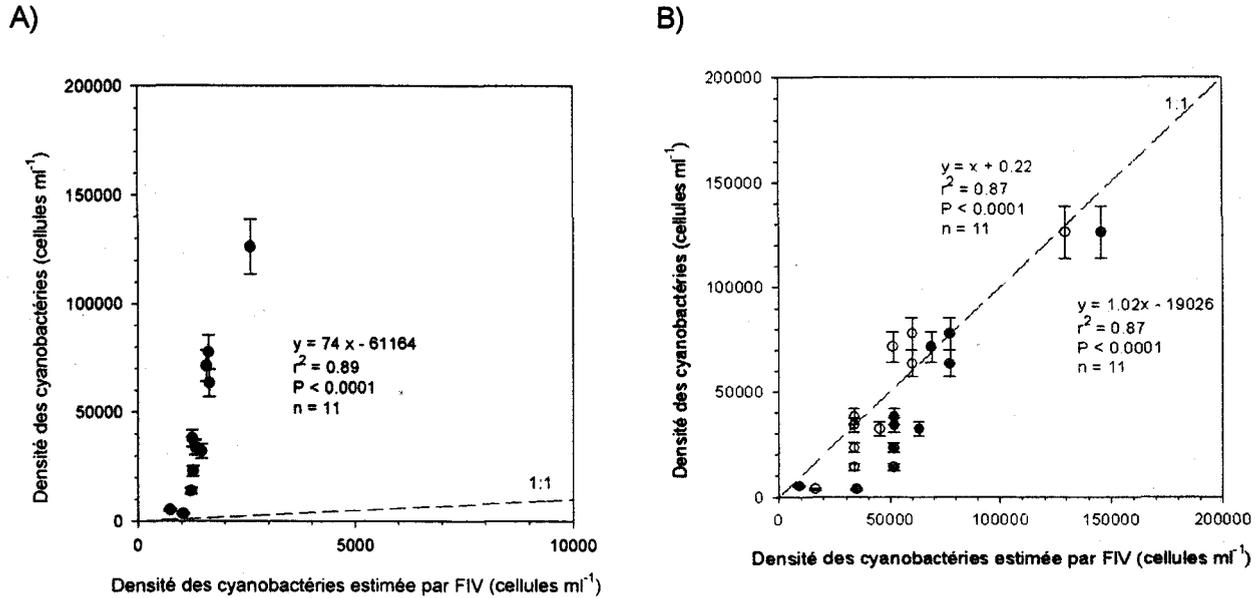


Figure 3.3 Relations entre la densité des cellules de cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant et la densité «équivalente» quantifiée par microscopie. A) Valeurs mesurées au lac Saint-Charles en 2008 (cercles noirs) et B) ces mêmes valeurs après la calibration *a posteriori* avec l'équation 1 (cercles bleus) ou l'équation 3 (cercles blancs).

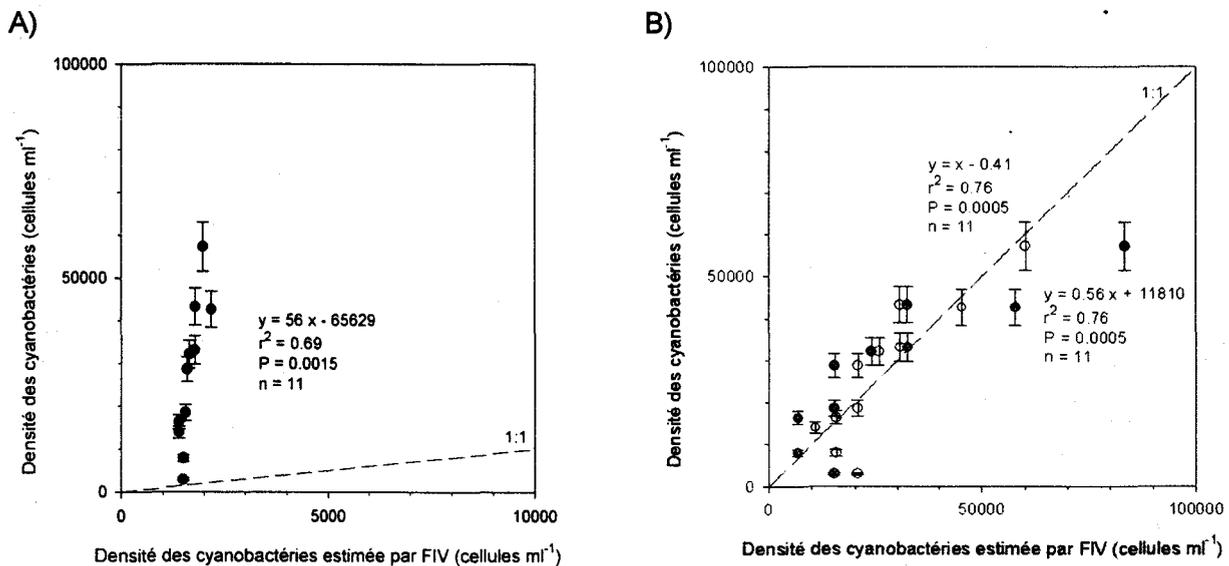
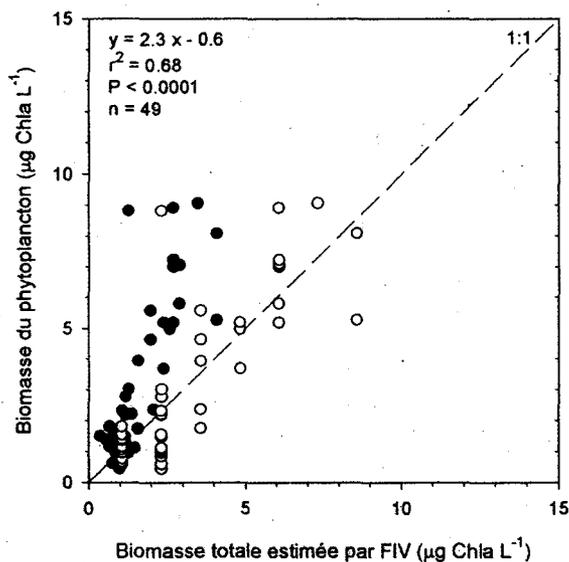


Figure 3.4 Relations entre la biomasse totale estimée à partir de la FIV de la Chl-a détectée au lac Saint-Charles par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant et la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie A) en 2007 et B) en 2008. Valeurs brutes mesurées (cercles noirs) et ces mêmes valeurs après la calibration *a posteriori* avec l'équation indiquée: A) $y = 2.3 x - 0.6$ et B) $y = 1.5 x + 0.9$).

A)



B)

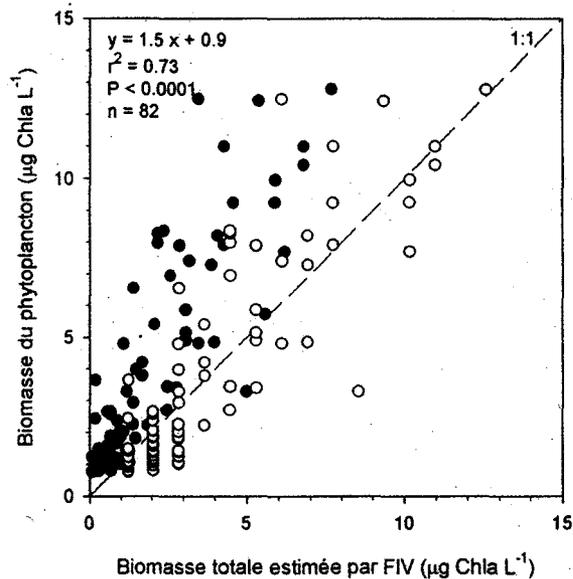


Figure 3.5 Relations entre A) la biomasse des cyanobactéries (cercles noirs), B) la biomasse des cyanobactéries et des cryptophytes (carrés noirs) ou C) la biomasse totale (triangles noirs) estimée à partir de la FIV de la Chl-a par le fluorimètre BBE calibré par le fabricant au lac Saint-Charles en 2007 et la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie.

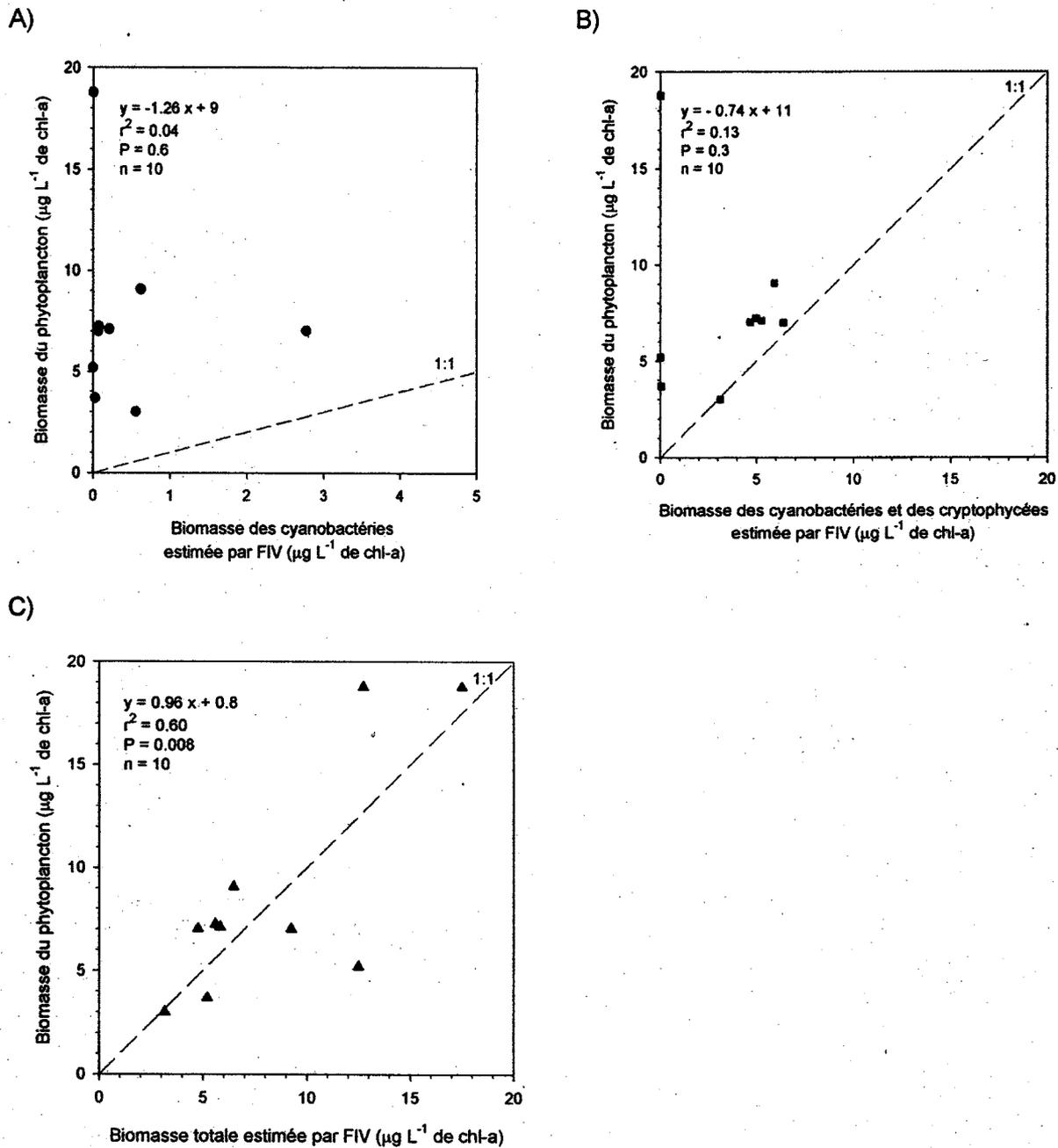


Figure 3.6 Relations entre A) la biomasse des cyanobactéries (cercles noirs), B) la biomasse des cyanobactéries et des cryptophytes (carrés noirs) ou C) la biomasse totale (triangles noirs) estimées à partir de la FIV de la Chl-a par le fluorimètre BBE calibré par le fabricant au lac Saint-Charles en 2008 et la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie.

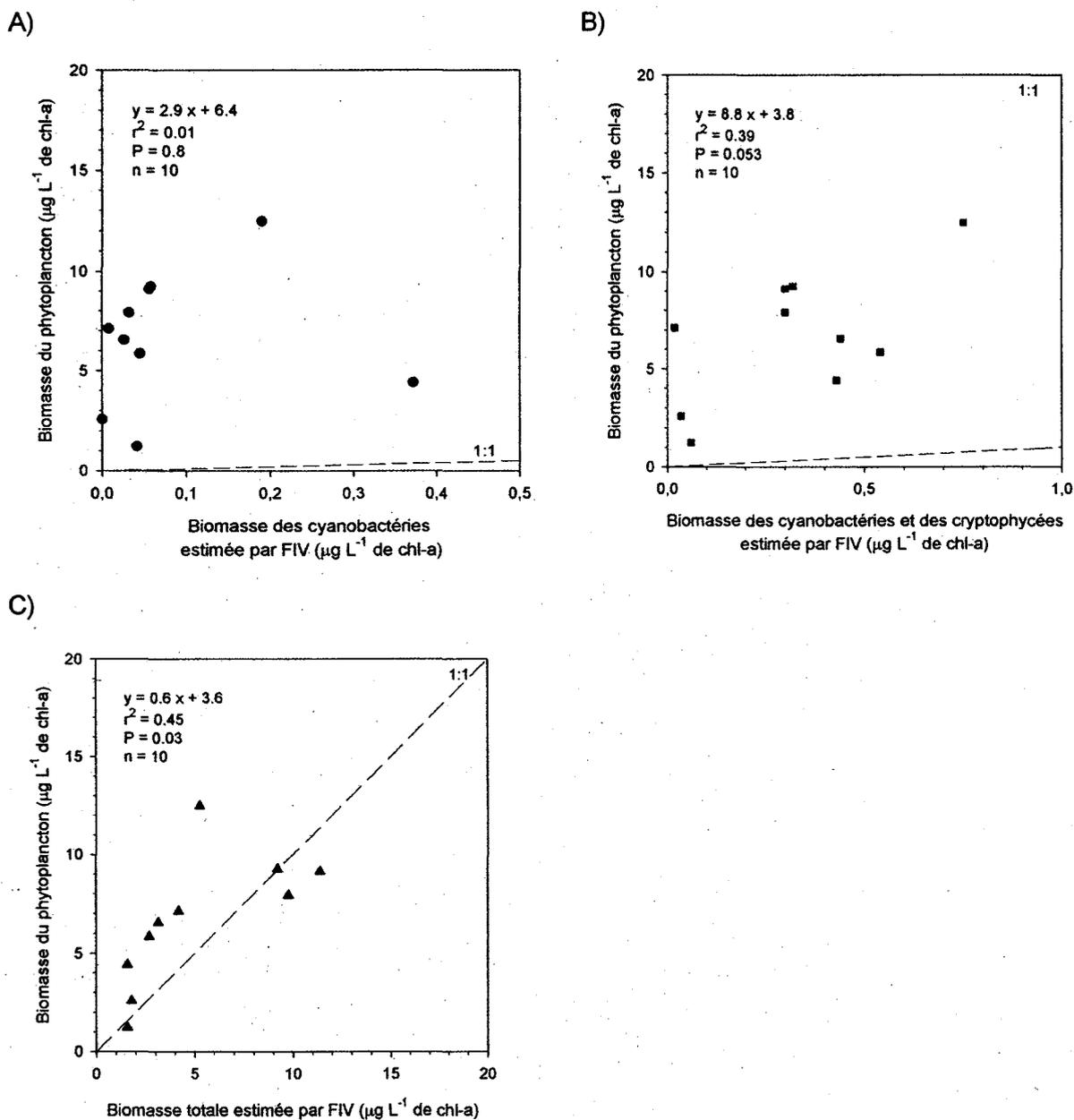


Figure 3.7 Relations entre la biomasse totale estimée à partir de la FIV de la Chl-a détectée au lac Saint-Charles par le fluorimètre BBE calibré par le fabricant et la biomasse totale quantifiée par spectrofluorimétrie A) en 2007 et B) en 2008.

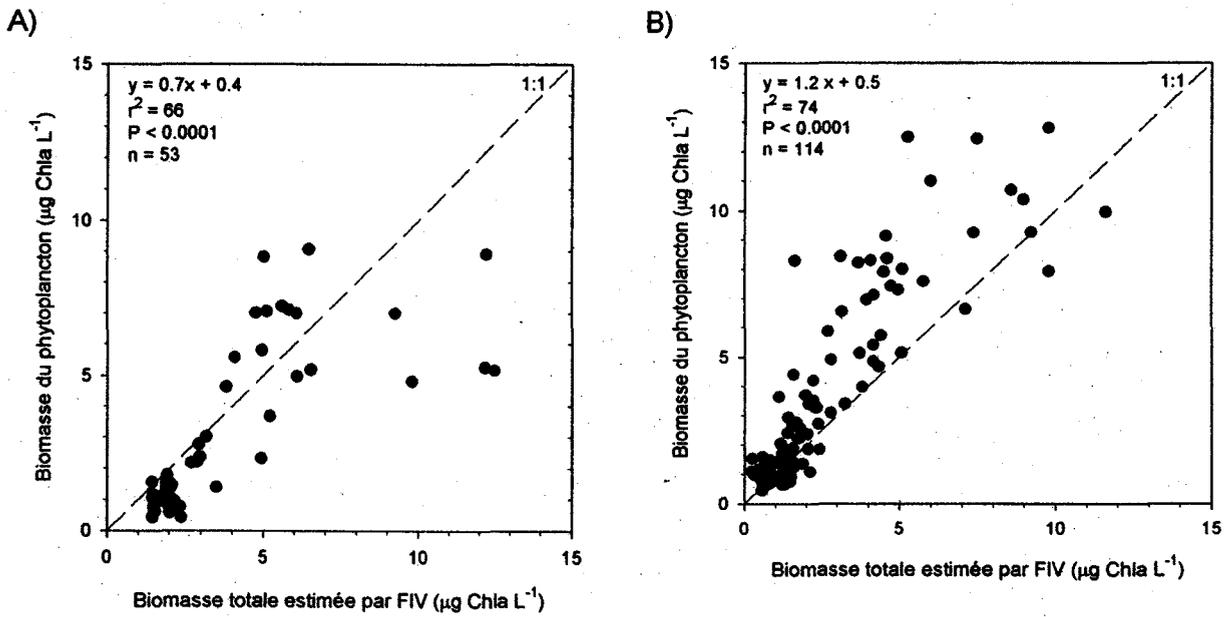


Figure 3.8 Évolution de la densité des cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant au site C5 du lac Saint-Charles sur l'ensemble de la colonne d'eau pendant la période d'échantillonnage en 2007. A) Valeurs après la calibration *a posteriori* avec l'équation 1 ou B) l'équation 2.

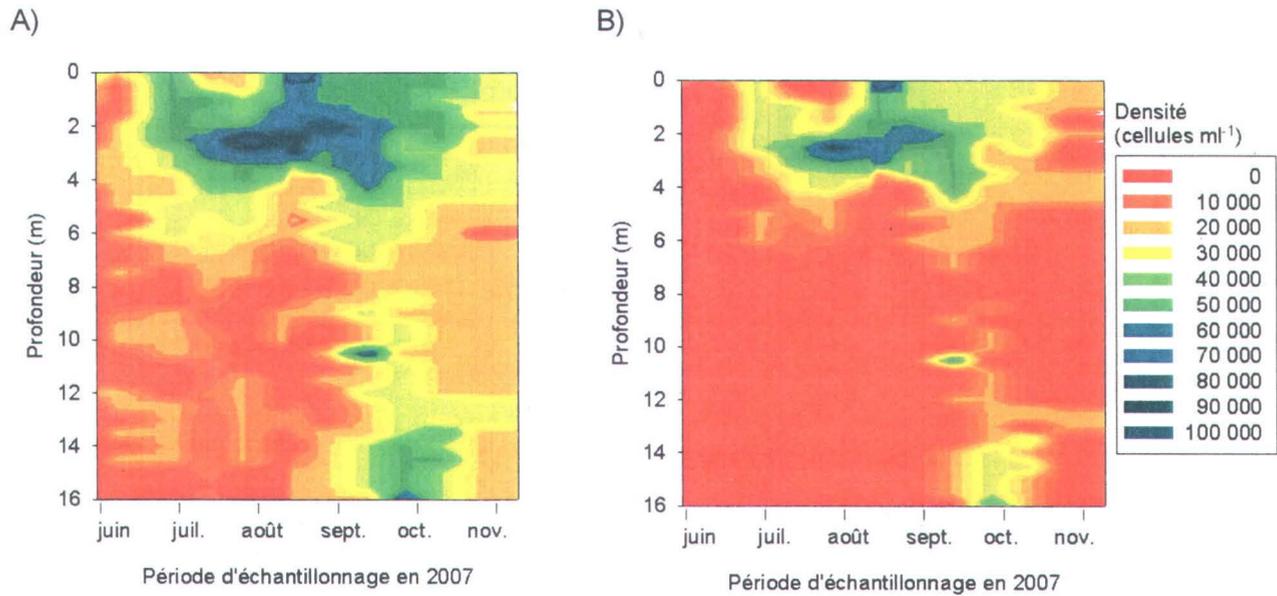


Figure 3.9 Évolution de la densité des cyanobactéries estimée à partir de la FIV de la PC par le fluorimètre YSI calibré par le fabricant au site C5 du lac Saint-Charles sur l'ensemble de la colonne d'eau pendant la période d'échantillonnage en 2008. A) Valeurs après la calibration *a posteriori* avec l'équation 1 ou B) l'équation 3.

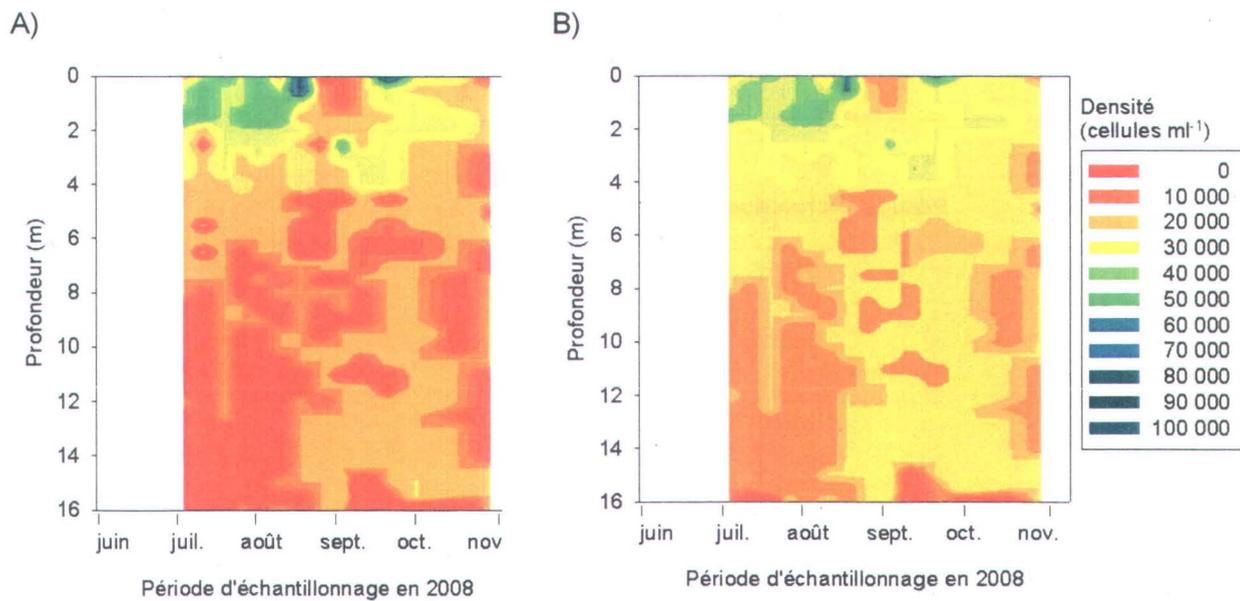


Figure 3.10 Évolution de l'assemblage de la communauté phytoplanctonique dans l'épilimnion du lac Saint-Charles pendant la période d'échantillonnage A) en 2007 et B) en 2008.

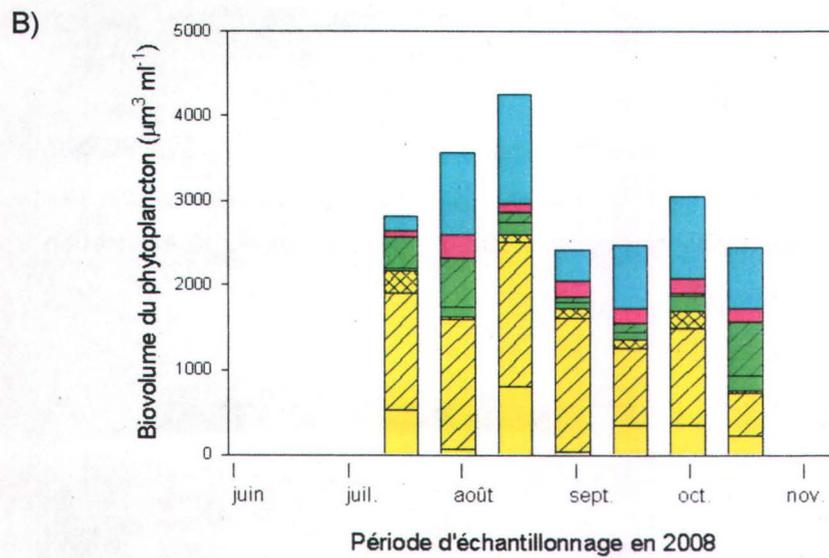
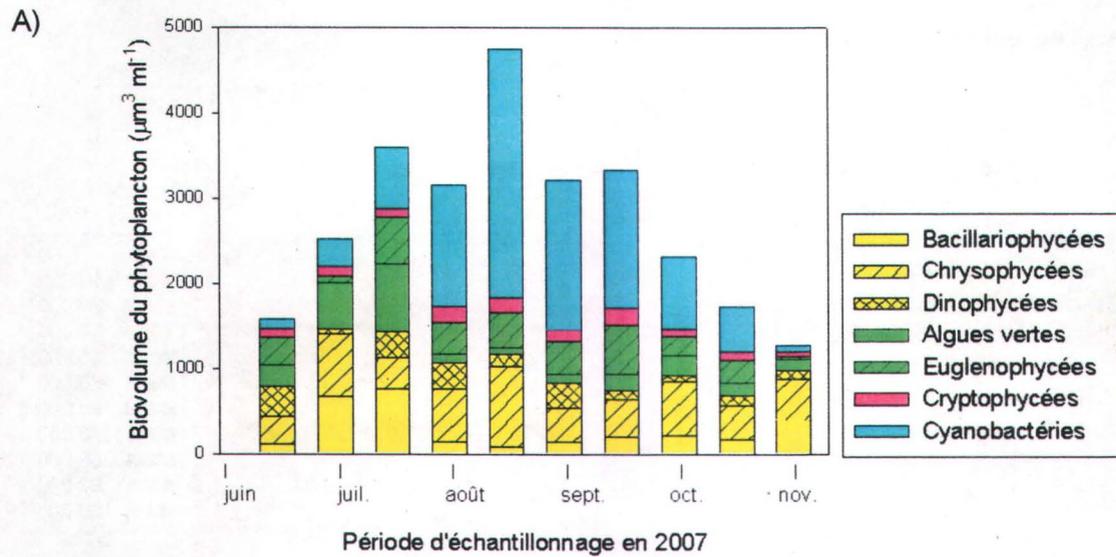
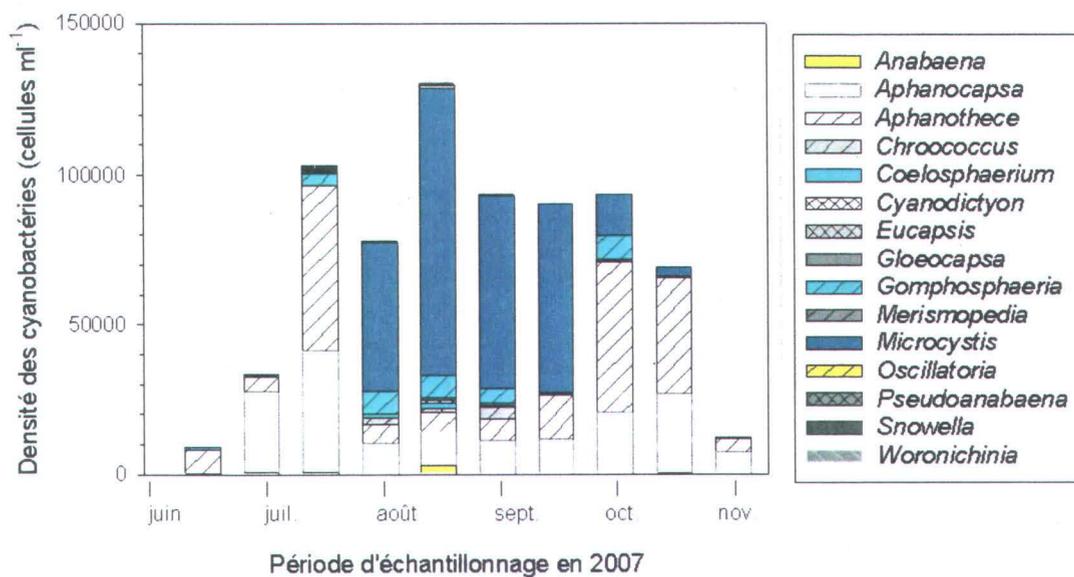


Figure 3.11 Évolution de la densité des genres de cyanobactéries dans l'épilimnion du lac Saint-Charles pendant la période d'échantillonnage A) en 2007 et B) en 2008. Les genres de cyanobactéries qui peuvent former des efflorescences sont identifiés par une coloration bleue (formes coloniales) ou jaune (formes filamenteuses). Les picocyanobactéries sont identifiées par une coloration blanche tandis que la coloration grise indique d'autres genres de cyanobactéries qui ne forment pas d'efflorescences.

A)



B)

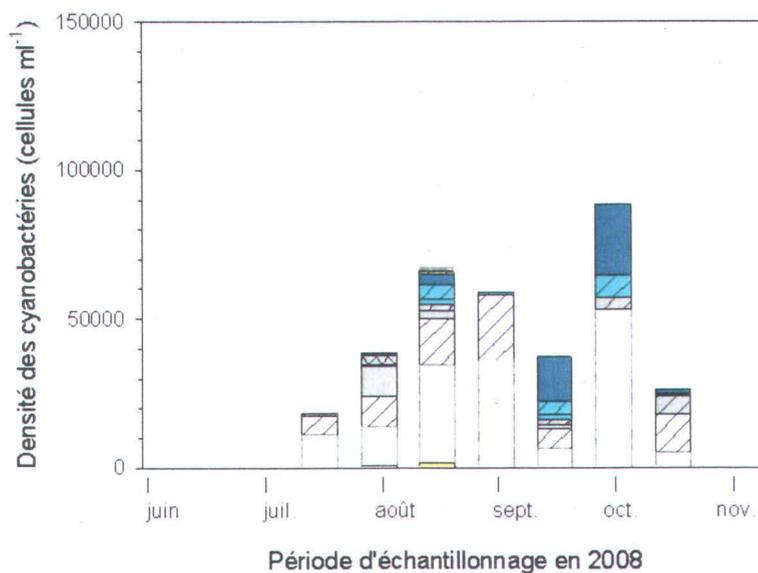


Figure 3.12 Efflorescence de cyanobactéries observée dans la Baie de l'Écho du lac Saint-Charles le 3 septembre 2007, formée de deux espèces ayant un potentiel toxique. A) *Anabaena* cf. *flos-aquae* (indiquée par la flèche) et *M. aeruginosa*, échelle = 150 µm. B) Colonie d'*Anabaena* avec des hétérocystes (H), échelle = 30 µm.

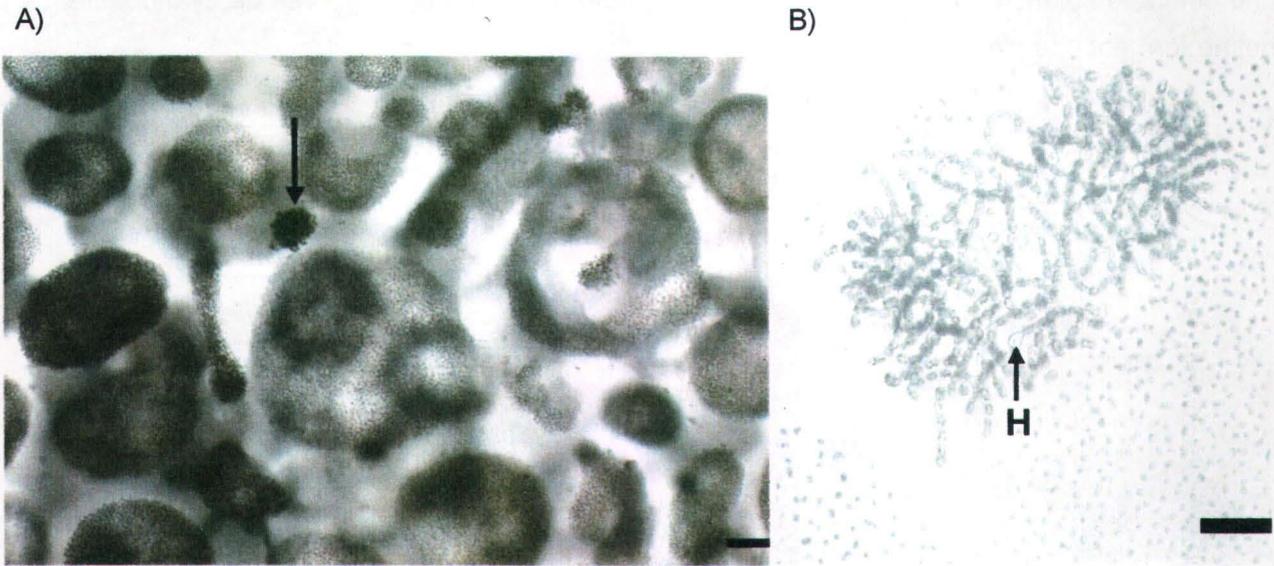


Figure 3.13 Efflorescence de cyanobactéries observée dans la Baie de l'Écho du lac Saint-Charles le 26 septembre 2007 (photo de S. Bourget).

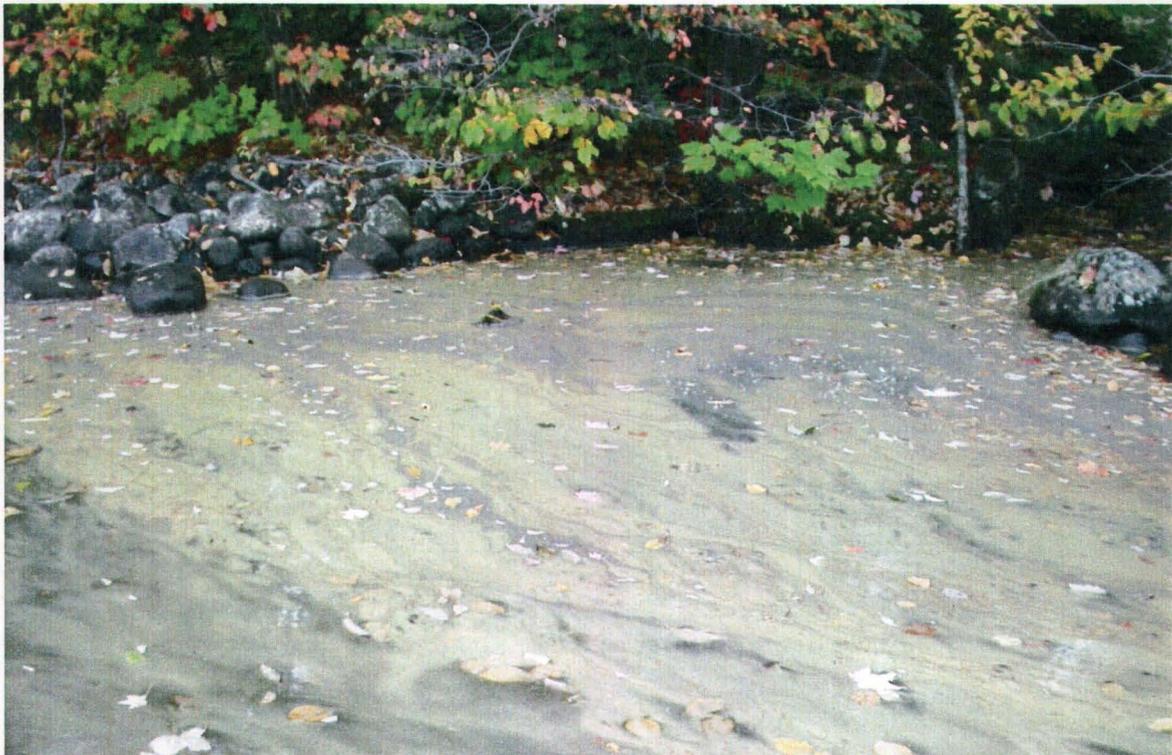


Tableau 3.1 Erreur relative (%) moyenne entre la densité des cellules de cyanobactéries estimée avec le fluorimètre YSI au lac Saint-Charles, selon différents types de calibration (du fabricant et calibration *a posteriori* avec l'équation 1, 2 ou 3) et la densité «équivalente» quantifiée par microscopie.

YSI	Erreur relative (%) moyenne en 2007		Erreur relative (%) moyenne en 2008	
	5 000 à 20 000 cellules ml ⁻¹	20 000 à 100 000 cellules ml ⁻¹	5 000 à 20 000 cellules ml ⁻¹	20 000 à 100 000 cellules ml ⁻¹
Densité des cyanobactéries				
Calibration du fabricant	83 (± 11)	97 (± 1)	89 (± 5)	95 (± 1)
Calibration <i>a posteriori</i> développée en laboratoire	417 (± 433)	48 (± 47)	51 (± 46)	30 (± 17)
Équation 1				
Calibration <i>a posteriori</i> développée à partir des valeurs «équivalentes»	267 (± 117)	22 (± 18)	34 (± 44)	16 (± 11)
Équation 2 pour 2007				
Équation 3 pour 2008				

CONCLUSION

De nombreux facteurs peuvent influencer la FIV détectée à l'aide de fluorimètres dans les écosystèmes aquatiques, il est donc nécessaire d'évaluer la performance de ces outils avant de les intégrer à un programme de suivi des cyanobactéries. La performance des deux types de fluorimètres pour faire le suivi rapide des cyanobactéries a été étudiée en milieu naturel après avoir été préalablement évaluée en laboratoire. Une méthode de calibration du fluorimètre YSI a été développée à partir de souche unicellulaire de *Microcystis* isolée du lac à l'étude afin d'ajuster le signal de FIV détecté aux conditions du milieu. Avec le fluorimètre YSI calibré par le fabricant, la densité des cyanobactéries est fortement sous-estimée, mais l'application de la méthode de calibration *a posteriori* développée pour la souche unicellulaire de *Microcystis* permet d'améliorer la justesse des estimés et permet de suivre rapidement le développement des populations de cyanobactéries *in situ*. Les équations de calibration *a posteriori* développées pour le YSI en fonction des valeurs « équivalentes » quantifiées pour les deux périodes de suivi en 2007 et 2008 permettent d'améliorer davantage la justesse des estimés dont les densités sont supérieures à 20 000 cellules ml^{-1} . Cette seconde correction *a posteriori* ne peut être appliquée rapidement, mais elle est nécessaire pour valider l'estimation rapide basée sur la première méthode de calibration *a posteriori*. Par ailleurs, selon les essais réalisés en laboratoire, la limite inférieure de quantification du fluorimètre YSI atteint plus de 8000 cellules ml^{-1} en présence de cellules de *Microcystis* de forme unicellulaire et plus de 19 000 cellules ml^{-1} en présence de la forme coloniale. Ces résultats suggèrent que le seuil de 20 000 cellules ml^{-1} peut être détecté de façon juste le YSI. Selon les valeurs de FIV de la PC détectées dans la colonne d'eau, lac Saint-Charles est touché par un épisode d'efflorescence de cyanobactéries dès le début du mois de juillet et jusqu'au début d'octobre en 2007. En 2008, le seuil de 20 000 cellules ml^{-1} est dépassé dans l'épilimnion pendant deux périodes en juillet-août et septembre-octobre, mais la population de cyanobactéries est surtout composée de picocyanobactéries qui ne forment pas d'efflorescences. Le fluorimètre BBE calibré par le fabricant n'a pas détecté la présence de cyanobactéries dans les conditions de l'étude, il ne permet donc pas de suivre le développement des efflorescences de cyanobactéries. Par contre, cet appareil permet de suivre la biomasse totale lorsque l'ensemble des groupes spectraux de phytoplancton sont cumulés.

Bien que les fluorimètres demeurent des outils complémentaires aux méthodes conventionnelles car leur performance doit être validée en fonction des caractéristiques de chacun des sites d'étude, ils peuvent être utiles pour étudier l'évolution spatio-temporelle des cyanobactéries, caractériser rapidement leur distribution dans la colonne d'eau, mieux choisir à quelle profondeur prélever les échantillons analysés selon les méthodes conventionnelles et détecter avec efficacité et à moindre coûts la présence d'espèces à potentiel toxique.

RÉFÉRENCES

- AHN, C. H., S. H. JOUNG, S. K. YOON et H. M. OH. 2007. Alternative alert system for cyanobacterial bloom, using phycocyanin as a level determinant. *The Journal of Microbiology* 45: 98-104.
- ALLEN, M. M. 1984. Cyanobacterial cell inclusions. *Annual Review of Microbiology* 38: 1-25.
- ALLEN, M. M. et A. J. SMITH. 1969. Nitrogen chlorosis in blue-green algae. *Archives of Microbiology* 69: 114-120.
- ANAGNOSTIDIS, K. et J. KOMAREK. 1990. Modern approach to the classification system of cyanophytes 3 - Oscillatoriales. *Archiv für Hydrobiologie, Algological Studies* 59: 1-73.
- ANNADOTTER, H., G. CRONBERG, L. A. LAWTON, H. B. HASSON, U. GÖTHE et O. M. SKULBERG. 2001. An extensive outbreak of gastroenteritis associated with the toxic cyanobacterium *Planktothrix agardhii* (Oscillatoriales, Cyanophyceae) in Scania, south Sweden, p. 200-208, dans I. Chorus (éd.). *Cyanotoxins – occurrence, causes, consequences*, Springer-Verlag, Berlin.
- APEL. 2009. Étude limnologique du haut-bassin de la rivière Saint-Charles, rapport final. Association pour la protection de l'environnement du lac Saint-Charles et des Marais du Nord, Ville de Québec, 354 pages.
- ASAI, R., S. Mc NIVEN, K. IKEBUKURO, I. KARUBE, Y. HORIGUCHI, S. UCHIYAMA, A. YOSHIDA et Y. MASUDA. 2000. Development of a fluorometric sensor for the measurement of phycobilin pigment and application to freshwater phytoplankton. *Field Analytical Chemistry and Technology* 4: 53-61.
- ASAI, R., Y. HORIGUCHI, A. YOSHIDA, S. Mc NIVEN, P. TAHIRA, K. IKEBUKURO, S. UCHIYAMA, Y. MASUDA et I. KARUBE. 2001. Detection of phycobilin pigments and their seasonal change in lake Kasumigaura using a sensitive *in situ* fluorometric sensor. *Analytical letters* 34: 2521-2533.
- BABICHENKO, S., A. LEEBEN, L. PORYVKINA, R. van der WAGT et F. de VOS. 2000. Fluorescent screening of phytoplankton and organic compounds in sea water. *Journal of Environmental Monitoring* 2: 378-383.
- BASTIEN, C., R. CARDIN, É. VEILLEUX, C. DEBLOIS, A. WARREN et I. LAURION. 2011. Performance evaluation of phycocyanin probes for the monitoring of cyanobacteria. *Journal of Environmental Monitoring* 13: 110-118.
- BEISNER, B. E. 2001. Plankton community structure in fluctuating environments and the role of productivity. *Oikos* 95: 496-510.
- BENECKE, B. 1884. Wasserblüthe. (Waterblooms). *Berichte des fischerei-vereins der provinzen west und ostpreussen*. *Miscellen* 1: 11-12.
- BERGMAN, B., J. R. GALLON, A. N. RAI et L. J. STAL. 1997. N₂ fixation by non-heterocystous cyanobacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 19: 139-185.

BEUTLER, M., K. H. WILTSHIRE, B. MEYER, C. MOLDAENKE, C. LÜRING, M. MEYERHÖFER, U. P. HANSEN et H. DAU. 2002. A fluorometric method for the differentiation of algal populations *in vivo* and *in situ*. *Photosynthesis Research* 72: 39-53.

BEUTLER, M., K. H. WILTSHIRE, B. MEYER, C. MOLDAENKE et H. DAU. 1998. Rapid depth-profiling of the distribution of spectral groups of microalgae in lakes, rivers and the sea, *Photosynthesis: Mechanisms and effects*, V, 4301-4304.

BEUTLER, M., K. H. WILTSHIRE, M. ARP, J. KRUSE, C. REINEKE, C. MOLDAENKE et U. P. HANSEN. 2003. A reduced model of the fluorescence from the cyanobacterial photosynthetic apparatus designed for the *in situ* detection of cyanobacteria. *Biochimica et Biophysica Acta Bioenergetics* 1604: 33-46.

BEUTLER, M., K. H. WILTSHIRE, C. REINEKE et U.-P. HANSEN. 2004. Algorithms and practical fluorescence models of the photosynthetic apparatus of red cyanobacteria and *Cryptophyta* designed for the fluorescence detection of red cyanobacteria and cryptophytes. *Aquatic microbial ecology* 35: 115-129.

BIDIGARE, R. R., M. E. ONDRUSEK, J. H. MORROW et D. A. KIEFER. 1990. *In vivo* absorption properties of algal pigments. *Ocean Optics* 1302: 290-302.

BLÁHA, L. et B. MARŠÁLEK. 1999. Microcystin production and toxicity of picocyanobacteria as a risk factor for drinking water treatment plants. *Archiv für Hydrobiologie, Algological Studies* 92: 95-108.

BODEMER, U. 2004. Variability of phycobiliproteins in cyanobacteria detected by delayed fluorescence excitation spectroscopy and its relevance for determination of phytoplankton composition of natural water samples. *Journal of plankton research* 26: 1147-1162.

BONILLA, S. 2008. Expériences de contrôles et de gestion des efflorescences de cyanobactéries ailleurs dans le monde. Colloque «Les cyanobactéries. Mieux connaître pour mieux gérer», Université Laval. (Site internet consulté le 14 décembre 2010, http://www.ihqeds.ulaval.ca/fileadmin/fichiers/fichiersIHQEDS/Colloques/ColloqueCyanoB/presentations/Presentation_Bonilla2.pdf)

BORMANS, M., P. W. FORD, L. FABBRO et G. HANCOCK. 2004. Onset and persistence of cyanobacterial blooms in a large impounded tropical river, *Australian Marine and Freshwater Resources* 55: 1-15.

BOUCHARD-VALENTINE, M. 2004. Floraisons de cyanobactéries au lac Saint-Augustin: dynamique à court terme et stratification, Université Laval, Département de biologie, Mémoire de maîtrise.

BOURGET, S. 2010. Limnologie et charge en phosphore d'un réservoir d'eau potable sujet à des efflorescences de cyanobactéries: le lac Saint-Charles, Québec. Université Laval, Département de biologie, Mémoire de maîtrise, 138 pages.

BRIENT, L., M. LENGRONNE, E. BERTRAND, D. ROLLAND, A. SIPEL, D. STEINMANN, I. BAUDIN, M. LEGEAS, B. LE ROUZIC et M. BORMANS. 2008. A phycocyanin probe as a tool for monitoring cyanobacteria in freshwater bodies. *Journal of Environmental Monitoring* 10: 248-255.

BRUNBERG, A. K. et P. BLOMQVIST. 2002. Benthic overwintering of *Microcystis* colonies under different environmental conditions. *Journal of Plankton Research* 24: 1247-1252.

BRUNBERG, A. K. et P. BLOMQVIST. 2003. Recruitment of *Microcystis* (Cyanophyceae) from lake sediments: the importance of littoral inocula. *Journal of Phycology* 39: 58-63.

BRUNBERG, A. K. et B. BÖSTROM. 1992. Coupling between benthic biomass of *Microcystis* and phosphorus release from the sediments of a highly eutrophic lake. *Hydrobiologia* 235/236: 375-385.

BRYANT, D. A. (éd.). 1994. The molecular biology of cyanobacteria. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 881 pages.

BRYANT, D. A., G. GUGLIELMI, N. TANDEAU de MARSAC, A. M. CASTETS et G. COHEN-BAZIRE. 1979. The structure of cyanobacterial phycobilisomes: A model. *Archives of Microbiology* 123: 113-127.

CARMICHAEL, W. W. 1997. The cyanotoxins, p. 211-256 dans J. A. CALLOW (éd.), *Advances in Botanical Research* Vol. 27, Academic Press, London.

CARMICHAEL, W. W. 2001. Health effects of toxin-producing cyanobacteria: The CyanoHABs. *Human and Ecological Risk Assessment* 7: 1393-1407.

CARMICHAEL W. W., S. M. F. O. AZEVEDO, J. C. SERVAITES, M. YUAN et R. M. SOARES. 2002. Evaluation of ELISA and HPLC/MS methods for measuring microcystins in human blood serum, p. 45 dans *Cyanobacterial toxins, a further contributory cause of mass deaths of flamingos at Kenyan Rift Valley lakes*. Xth International Conference on Harmful Algae. St. Petersburg, Florida, USA.

CARMICHAEL, W. W., S. M. F. O. AZEVEDO, J. S. AN, R. J. R. MOLICA, E. M. JOCHIMSEN, S. LAU, K. L. RINEHART, G. R. SHAW et G. K. EAGLESHAM. 2001. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins, *Environmental Health Perspectives* 109: 663-668.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC (CEAEQ). 2007a. Certificat d'analyse des cyanotoxines, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Ville de Québec, 2 pages.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC (CEAEQ). 2007b. Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie, DR-12-VMC, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Ville de Québec, 29 pages.

CHANEVA G., S. FURNADZHIEVA, K. MINKOVA et J. LUKAVSKY. 2007. Effect of light and temperature on the cyanobacterium *Arthronema africanum* - a prospective phycobiliprotein-producing strain. *Journal of Applied Phycology* 19: 537-544.

CHEN, Y., B. QIN, K. TEUBNER et M. DOKULIL. 2003. Long-term dynamics of phytoplankton assemblages: *Microcystis*-domination in Lake Taihu, a large shallow lake in China. *Journal of Plankton Research* 25: 445-453.

CHORUS, I. et J. BARTRAM (éd.). 1999. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management, E & FN Spon, London, 416 pages.

COALE, K. H. 1991. Effects of iron, manganese, copper and zinc enrichments on productivity and biomass in the Subarctic Pacific. *Limnology and Oceanography* 36: 1851-1864.

CODD G. A., J. LINDSAY et F. M. YOUNG. 2005. p.1-23 dans J. HUISMAN, H. C. P. MATTHIJS et P. M. VISSER (éd.). Harmful cyanobacteria, Aquatic Ecology Series, vol. 3, Springer, Dordrecht.

CRONBERG, G. et H. ANNADOTTER. 2006. Manual on aquatic cyanobacteria. A photo guide and a synopsis of their toxicology, ISSHA, Copenhagen, 106 pages.

de BAAR, H. J. W., T. M. de JONG, D. C. E. BAKKER, B. M. LOSCHER, C. VETH, U. BATHMANN et V. SMETACEK. 1995. Importance of iron for plankton blooms and carbon dioxide draw down in the Southern Ocean. *Nature* 373: 412-415.

de NOBEL, W. T., J. HUISMAN, J. L. SNOEP et L. R. MUR. 1997. Competition for phosphorus between the nitrogen-fixing cyanobacteria *Anabaena* and *Aphanizomenon*. *FEMS Microbiology Reviews Ecology* 4: 259-267.

DEACON, C. et A. E. WALSBY. 1990. Gas vesicle formation in the dark, and in light of different irradiances, by the cyanobacterium *Microcystis* sp. *British Phycological Journal* 25: 133-139.

DENNISON, W. C., J. M. O'NEIL, E. J. DUFFY, P. E. OLIVER et G. R. SHAW. 1999. Blooms of the cyanobacterium *Lyngbya majuscula* in coastal waters of Queensland, Australia, p. 501-506, dans L. Charpy et A. W. D. Larkum (éd.), *Marine Cyanobacteria*, Monaco Musée Océanographique, Monaco.

DIGNUM, M., H. L. HOOGVELD, H. C. P. MATTHIJS, H. J. LAANBROEK et R. PEL. 2004. Detecting the phosphate status of phytoplankton by enzyme-labelled fluorescence and flow cytometry. *FEMS Microbiology Ecology* 48: 29-38.

DITTMANN, E., M. ERHARD, M. KAEBERNICK, C. SCHELER, B. A. NEILAN, H. von DÖHREN et T. BÖRNER. 2001. Altered expression of two light-dependent genes in a microcystin-lacking mutant of *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Microbiology* 147, 3113-3119.

DOMINGOS, P., T. K. RUBIM, R. J. R. MOLICA, S. M. F. O. AZEVEDO et W. W. CARMICHAEL. 1999. First report of microcystin production by picoplanktonic cyanobacteria isolated from a northeast brazilian drinking water supply. *Environmental Toxicology* 14: 31-35.

DOWNING, J. A., S. B. WATSON et E. Mc CAULEY. 2001. Predicting cyanobacteria dominance in lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58: 1905-1908.

DUARTE, C. M. et D. E. CANFIELD. 1992. Patterns in phytoplankton community structure in Florida lakes. *Limnology and Oceanography* 37: 155-161.

ELLIS, D. 2008. Guide d'intervention pour les propriétaires, les exploitants ou les concepteurs de stations de production d'eau potable municipales aux prises avec une problématique de fleurs d'eau de cyanobactéries. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, Direction des politiques de l'eau, ISBN 978-2-550-53297-2, Québec, QC, Canada, 46 pages.

- ERIKSEN, N. T. 2008 Production of phycocyanin-a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Applied Microbiology and Biotechnology* 80: 1-14.
- FALCONER, I. R., A. M. BERESFORD et M. T. C. RUNNEGAR. 1983. Evidence of liver damage by toxin from a bloom of the blue-green alga, *Microcystis aeruginosa*. *Medical Journal of Australia* 1: 511-514.
- FLETT, R. J., D. W. SCHINDLER, R. D. HAMILTON et N. E. R. CAMPBELL. 1980. Nitrogen fixation in Canadian Precambrian Shield lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37: 494-505.
- FORSELL, L. 1998. Migration from the littoral zone as an inoculum for phytoplankton. *Archiv für Hydrobiologie, Special Issues: Advances in Limnology* 51: 21-27.
- FUJITA, Y., A. MURAKAMI et K. AIZAWA. 1994. Short-term and long-term adaptation of the photosynthetic apparatus: homeostatic properties of thylakoids, p. 677-692, dans D. A. Bryant (éd.), *The molecular biology of cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- GANF, G. G. 1974. Diurnal mixing and the vertical distribution of phytoplankton in a shallow equatorial lake (Lake George, Uganda). *Journal of Ecology* 62: 611-629.
- GANF, G. G. et R. L. OLIVER. 1982. Vertical separation of light and available nutrients as a factor causing replacement of green algae by blue-green algae in the plankton of a stratified lake. *Journal of Ecology* 70: 829-844.
- GERHARDT, V et M. BALODE. 1998. Delayed fluorescence excitation spectroscopy: a method for automatic determination of phytoplankton composition of freshwaters and sediments (interstitial) and of algal composition of benthos. *Limnologica* 28: 313-322.
- GHADOUANI, A. et R. E. H. SMITH. 2005. Phytoplankton distribution in lake Erie as assessed by a new *in situ* spectrofluorometric technique. *Journal of Great Lakes Research* 31 (Supplement 2): 154-167.
- GIBSON, C. E., R. V. SMITH et D. A. STEWART. 1988. A long term study of the phosphorus cycle in Lough Neagh, Northern Ireland. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 73: 249-257.
- GLAZER, A. N. 1989. Light guides. Directional energy transfer in photosynthetic antenna. *Journal of Biological Chemistry* 264: 1-4.
- GONS, H. J. H. HAKVOORT, S. W. M. PETERS et S. G. H. SIMIS. 2005. Optical detection of cyanobacterial blooms. Shipboard observation and remote sensing. p. 177-199, dans J. Huisman, H. C. P. Matthijs et P. M. Visser (éd.), *Harmful Cyanobacteria*, Springer, Dordrecht.
- GROTZINGER, J. P. et D. H. ROTHMAN. 1996. An abiotic model for stromatolite morphogenesis. *Nature* 383: 423-425.
- GREGOR, J. et B. MARSALEK. 2004. Freshwater phytoplankton quantification by chlorophyll a: a comparative study of *in vitro*, *in vivo* and *in situ* methods. *Water Research* 38: 517-522.

GREGOR, J. et B. MARSALEK. 2005. A simple *in vivo* fluorescence method for the selective detection and quantification of freshwater cyanobacteria and eukaryotic algae. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* 33: 142-148.

GREGOR, J., B. MARSALEK et H. SIPKOVA. 2007. Detection and estimation of potentially toxic cyanobacteria in raw water at the drinking water treatment plant by *in vivo* fluorescence method. *Water Research* 41: 228-234.

GREGOR, J., R. GERIS, B. MARSALEK, JIRI HETESA et P. MARVAN. 2005. *In situ* quantification of phytoplankton in reservoirs using a submersible spectrofluorometer. *Hydrobiologia* 548:141-151.

GROSS, E. M. 2003. Allelopathy of aquatic autotrophs. *Critical Reviews in Plant Sciences* 22: 313-339.

GROSSMAN, A. R., D. BHAYA et Q. HE. 2001. Tracking the light environment by cyanobacteria and dynamic nature of light harvesting. *Journal of Biological Chemistry* 276: 11449-11452.

INSTITUT NATIONAL DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC (INSPQ). 2005. Propositions de critères d'intervention et de seuils d'alerte pour les cyanobactéries, 4 pages. (Site internet consulté le 14 décembre 2010, www.inspq.qc.ca/pdf/publications/348-CriteresInterventionCyanobacteries.pdf.)

HANSSON, L. A. 1993. Factors initiating algal life-form shift from sediments to water. *Oecologia* 94: 286-294.

HANSSON, L. A. et C. BRÖNMARK. 2005. *The biology of lakes and ponds*. Oxford University Press, Oxford, 285 pages.

HEANEY, S. I. 1978. Some observations on the use of the *in vivo* fluorescence technique to determine chlorophyll a in natural populations and cultures of freshwater phytoplankton. *Freshwater Biology* 8: 115-126.

HENRION, R., G. HENRION, M. BOHME et M. BEHRENDT. 1997. Three-way principal components analysis for fluorescence spectroscopic classification of algae species. *Fresenius Journal of Analytical chemistry* 357: 522-526.

HINDMAN, S. H., M. S. FAVERO, L. A. CARSON, N. J. PETERSEN, L. B. SCHONBERGER et J. T. SOLANO. 1975. Pyrogenic reactions during haemodialysis caused by extramural endotoxin. *The Lancet* 2: 732-734.

HOEGER S. J., B. C. HITZFELD et D. R. DIETRICH. 2005. Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins in drinking water treatment plants. *Toxicology and Applied Pharmacology* 203: 231-242.

HORNE, A. J. et C. R. GOLDMAN. 1994. *Limnology*. 2^e édition. McGraw-Hill, New-York, 576 pages.

HORNE, A. J. et M. L. Commins. 1987. Macronutrient controls on nitrogen fixation in planktonic cyanobacterial populations. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 21: 413-423.

HOUGHTON, J. T., Y. DING, D. J. GRIGGS, M. NOGUER, P. J. Van der LINDEN et D. XIAOSU (éd.). 2001. Climate change 2001: the scientific basis. Contribution of working group I to the third CC assessment report of the IPCC, Cambridge University Press, Cambridge, 944 pages.

HOWARD, A. et M. P. EASTHOPE. 2002. Application of a model to predict cyanobacterial growth patterns in response to climatic change at Farmoor reservoir, Oxfordshire, UK, Science of the Total Environment 282: 459-469.

HOWARTH, R. W., R. MARINO, J. LANE et J. J. COLE. 1988. Nitrogen fixation in freshwater, estuarine, and marine ecosystems. 1. Rates and importance. Limnology and Oceanography 33: 669-687.

HUISMAN, J. et F. D. HULOT. 2005. Population dynamics of harmful cyanobacteria: factors affecting species composition, p. 143-176, dans J. HUISMAN, H. C. P. MATTHIJS et P. M. VISSER (éd.). Harmful cyanobacteria, Aquatic ecology series, vol. 3, Springer, Dordrecht.

HUISMAN, J., H. C. P. MATTHIJS et P. M. VISSER (éd.). 2005. Harmful cyanobacteria, Aquatic Ecology Series, vol. 3, Springer, Dordrecht, 241 pages.

HUOT, Y. et M. BABIN. 2011. Overview of Fluorescence Protocols: Theory, Basic Concepts, and Practice, p.31-74, dans D. J. SUGGETT, O. PRASIL et M. A. BOROWITZKA (éd.), Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: methods and applications. Developments in Applied Phycology 4, Springer, Dordrecht.

HUTCHINSON, G. E. 1967. A treatise on limnology. II, Introduction to lake biology and the limnoplankton, John Wiley & Sons, New York, 1115 pages.

IBELINGS B. W. et L. R. MUR. 1992. Microprofiles of photosynthesis and oxygen concentration in *Microcystis* sp. scums. FEMS Microbiology Letters 86: 195-203.

IBELINGS B. W., L. R. MUR et A. E. WALSBY. 1991. Diurnal changes in buoyancy and vertical distribution in populations of *Microcystis* in two shallow lakes. Journal of Plankton Research 13: 419-436.

IBELINGS, B. W., M. VONK, H. F. J. LOS, D. T. VAN DER MOLEN et W. M. MOOIJ. 2003. Fuzzy modeling of cyanobacterial surface waterblooms: validation with NOAA-AVHRR satellite images. Ecological Applications 13, 1456-1472.

IBELINGS, B. W. et S. C. MABERLY. 1998. Photoinhibition and the availability of inorganic carbon restrict photosynthesis by surface blooms of cyanobacteria. Limnology and Oceanography 43: 408-419.

IPCC. 2007. Climate change 2007: synthesis report. Contribution of working groups I, II and III to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R. K Pachauri et A. Reisinger (éd.)]. IPCC, Genève, 104 pages.

IZYDORCZYK, K., M. TARCZYNSKA, T. JURCZAK, J. MROWCZYNSKI, et M. ZALEWSKI. 2005. Measurement of phycocyanin fluorescence as an online early warning system for cyanobacteria in reservoir intake water. Environmental Toxicology 20: 425-430.

IZYDORCZYK, K., C. CARPENTIER, J. MROWCZYNSKI, A. WAGENVOORT, T. JURCZAK et M. TARCZYNSKA. 2009. Establishment of an alert level framework for cyanobacteria in drinking water resources by using the Algae Online Analyser for monitoring cyanobacterial chlorophyll a. *Water Research* 43:989-996.

JACOBY, J. M., D. C. COLLIER, E. B. WELCH, F. J. HARDY et M. CRAYTON. 2000. Environmental factors associated with a toxic bloom of *Microcystis aeruginosa*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57: 231-240.

JEFFREY, S. W. et G. M. HALLEGRAEFF. 1990. Phytoplankton ecology of Australasian waters, p. 310-348, dans M. N. Clayton et R. J. King (éd.), *Biology of Marine Plants*, Longman Cheshire, Melbourne.

JEFFREY, S. W. et M. VESK. 1997. Introduction to marine phytoplankton and their pigment signatures, p. 37-84, dans S. W. JEFFREY, R. F. C. MANTOURA et S. W. WRIGHT (éd.), *Phytoplankton pigments in Oceanography: guidelines to modern methods*, UNESCO, Paris.

JEFFREY, S. W. et R. F. C. MANTOURA. 1997. Development of pigment methods for oceanography: SCOR-supported Working Groups and objectives, p. 19-36, dans S. W. JEFFREY, R. F. C. MANTOURA et S. W. WRIGHT (éd.), *Phytoplankton pigments in Oceanography: guidelines to modern methods*, UNESCO, Paris.

JOURDAIN, MYRIAM. 2010. Les effets des variables environnementales sur le recrutement des cyanobactéries et des akinètes. Université du Québec à Montréal, Département de biologie, Mémoire de maîtrise, 126 pages.

KAWAMURA, M., M. MIMURO et Y. FUJITA. 1979. Quantitative relationship between two reaction centers in the photosynthetic system of blue-green algae. *Plant and Cell Physiology* 20: 697-705.

KEARNS, K. D. et M. D. HUNTER. 2001. Toxin-producing *Anabaena flos-aquae* induces settling of *Chlamydomonas reinhardtii*, a competing motile alga. *Microbial Ecology* 42: 80-86.

KEATING, K. I. 1977. Allelopathic influences on blue-green bloom sequence in a eutrophic lake. *Science* 296: 885-887.

KLEMER, A. R., L. L. HENDZEL, D. L. FINDLAY, R. A. HEDIN, M. T. MAGEAU et A. KONOPKA. 1995. Carbon availability and the pattern of cyanobacterial dominance in enriched low-carbon waters. *Journal of Phycology* 31: 735-744.

KOMAREK, J. et K. ANAGNOSTIDIS. 1989. Modern approach to the classification system of cyanophytes 4 - Nostocales. *Archiv für Hydrobiologie, Algological Studies* 56: 247-345.

KOMÁREK J. et K. ANAGNOSTIDIS. 1998. Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales, dans H. Ettl, G. Gärtner, H. Heynig et D. Mollenhauer (ed), *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 19/1, Gustav Fischer, Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm, 548 pages.

KOMÁREK J. et K. ANAGNOSTIDIS. 2005. Cyanoprokaryota 2. Teil/ 2nd Part: Oscillatoriales, dans B. Büdel, L. Krienitz, G. Gärtner et M. Schager (éd.), *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 19/2, Elsevier/Spektrum, Heidelberg, 759 pages.

- KUMAGAI, M., S. NAKANO, C. JIAO, K. HAYAKAWA, S. TSUJIMURA, T. NAKAJIMA, J.-J. FRENETTE et A. QUESADA. 2000. Effect of cyanobacterial blooms on thermal stratification. *Limnology* 1: 191-195.
- KURMAYER, R., G. CHRISTIANSEN et I. CHORUS. 2003. The abundance of microcystin-producing genotypes correlates positively with colony size in *Microcystis* sp. and determines its microcystin net production in Lake Wannsee. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 787-795.
- LAVOIE, I., I. LAURION, A. WARREN et W.F. VINCENT, 2007. Les fleurs d'eau de cyanobactéries, revue de littérature. Institut National de la Recherche Scientifique, rapport n° 916, Québec, 120 pages.
- LEBOULANGER, C., U. DORIGO, S. JACQUET, B. Le BERRE, G. PAOLINI et J. F. HUMBERT. 2002. Application of a submersible spectrofluorometer for rapid monitoring of freshwater cyanobacterial blooms: a case study. *Aquatic Microbial Ecology* 30: 83-89.
- LEE, J. G., S. B. ROBERTS et F. M. M. MOREL. 1995. Cadmium: a nutrient for the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Limnology and Oceanography* 40: 1056-1063.
- LÉGARÉ, S. 1998. Dynamique de l'oxygène en lac et en rivière dans le bassin versant de la rivière Saint-Charles, Mémoire de maîtrise, Québec, Université Laval, 146 pages.
- LEWIS, W. M. 1976. Surface/volume ratio: implications for phytoplankton morphology. *Science* 192: 885-887.
- LORENZEN, C. J. 1966. A method for the continuous measurement of *in vivo* chlorophyll concentration. *Deep Sea Research* 13: 223-227.
- MacCOLL, R. 1998. Cyanobacterial phycobilisomes. *Journal of Structural Biology* 124: 311-334.
- MacINTYRE, H. L., E. LAWRENZ et T. L. RICHARDSON. 2011. Taxonomic discrimination of phytoplankton by spectral fluorescence. p.129-169, dans D. J. SUGGETT, O. PRASIL et M. A. BOROWITZKA (éd.), *Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: methods and applications*. *Developments in Applied Phycology* 4, Springer, Dordrecht.
- MacINTYRE, S. et R. JELLISON. 2001. Nutrient fluxes from upwelling and enhanced turbulence at the top of the pycnocline in Mono Lake, California. *Hydrobiologia* 466: 13-29.
- MARQUEZ F. J., K. SASAKI, T. KAKIZONO, N. NISHIO et S. NAGAI. 1993. Growth characterization of *Spirulina platensis* in mixotrophic and heterotrophic conditions. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 76: 408-410.
- MILLIE D. F., O. M. E. SCHOFIELD, G. J. KIRKPATRICK, G. JOHNSEN et T. J. EVENS. 2002. Using absorbance and fluorescence spectra to discriminate microalgae. *European Journal of Phycology* 37: 313-322.
- MINISTÈRE DU DÉVELOPPEMENT DURABLE, DE L'ENVIRONNEMENT ET DES PARCS (MDDEP). 2010. Bilan des lacs et cours d'eau touchés par les fleurs d'eau d'algues bleu-vert au Québec. (Site internet consulté le 14 décembre 2010, <http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/flrivlac/algues.htm>).

MOUTIN, T., T. F. THINGSTAD, F. Van WAMBEKE, D. MARIE, G. SLAWYK, P. RAIMBAULT et H. CLAUSTRE. 2002. Does competition for nanomolar phosphate supply explain the predominance of the cyanobacterium *Synechococcus*? *Limnology and Oceanography* 47: 1562-1567.

MÜLLER C., W. REUTER, W. WEHRMEYER, H. DAU et H. SENGER. 1993. Adaptation of the photosynthetic apparatus of *Anacystis nidulans* to irradiance and CO₂ concentration. *Botanica Acta* 106: 480-487.

MUR, L. R., H. J. GONS et L. Van LIERE. 1977. Some experiments on the competition between green algae and blue-green bacteria in light-limited environments. *FEMS Microbiology Letters* 1: 335-338.

MUR, L. R., O. M. SKULBERG et H. UTKILEN. 1999. Cyanobacteria in the environment, p. 14-40, dans I. Chorus and J. Bartram (éd.), *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*, E & FN Spon, London.

NARAYAN M. S., G. P. MANOJ, K. VATCHRAVELU, N. BHAGYALAKSHMI et M. MAHADEVASWAMY. 2005. Utilization of glycerol as carbon source on the growth, pigment and lipid production in *Spirulina platensis*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56: 521-528.

NUSCH, E. A. 1980. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Archiv für Hydrobiologie, Ergebnisse der Limnologie*. 14: 14-36.

OBEREMM, A., J. BECKER, G. A. CODD et C. STEINBERG. 1999. Effects of cyanobacterial toxins and aqueous crude extracts of cyanobacteria on the development of fish and amphibians. *Environmental Toxicology* 14: 77-88.

OLIVER, R. L. et G. G. GANF. 2000. Freshwater blooms, p. 149-194, dans B. A. Whitton et M. Potts (éd.), *The ecology of cyanobacteria, their diversity in time and space*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

OLIVER, R. L., R. H. THOMAS, C. S. REYNOLDS et A. E. WALSBY. 1985. The sedimentation of buoyant *Microcystis* colonies caused by precipitation with an iron-containing colloid. *Proceedings of the Royal Society of London B* 223: 511-528.

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ (OMS). 1998. *Guidelines for drinking-water quality. Second edition. Addendum to volume 2: Health criteria and other supporting information*. World Health Organization, Genève, 283 pages.

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ (OMS). 2003. *Guidelines for safe recreational water environments*. World Health Organization, Genève, 220 pages.

PAERL, H. W. 1990. Physiological ecology and regulation of N₂ fixation in natural waters. *Advances in Microbial Ecology* 11: 305-344.

PAERL, H. W. et J. HUISMAN. 2008. Blooms like it hot. *Science* 320: 57-58.

PAERL, H. W. et J. HUISMAN. 2009. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports* 1: 27-37.

- PAERL, H. W. et R. S. FULTON. 2006. Ecology of harmful cyanobacteria, p.95-109, dans E. Granéli et J. T. Turner (éd.), Ecology of harmful algae, Ecological Studies vol.189, Springer-Verlag, Berlin.
- PALIKOVA, M., S. NAVRATIL, B. MARSALEK et L. BLAHA. 2003. Toxicity of crude extract of cyanobacteria for embryos and larvae of carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta Veterinaria Brunensis 72: 437-443.
- PANNARD, A., B. E. BEISNER, D. F. BIRD, J. BRAUN, D. PLANAS et M. BORMANS. 2011. Recurrent internal waves in a small lake: Potential ecological consequences for metalimnetic phytoplankton populations. Limnology & Oceanography: Fluids & Environments 1: 91-109.
- PANNARD, A., M. BORMANS et Y. LAGADEUC. 2008. Phytoplankton species turnover controlled by physical forcing at different time scales. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 65: 47-60.
- PEMBERTON, K. L., R. E. H. SMITH, G. M. SILSBE, T. HOWELL et S. B. WATSON. 2007. Controls on phytoplankton physiology in lake Ontario during the late summer: evidence from new fluorescence methods. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 64: 58-73.
- PHILLIPS, K. A. et M. W. FAWLEY. 2002. Winter phytoplankton community structure in three shallow temperate lakes during ice cover. Hydrobiologia 470: 97-113.
- PICK, F. R. et D. R. S. LEAN. 1987. The role of macronutrients (C, N, P) in controlling cyanobacterial dominance in temperate lakes. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research 21: 425-434.
- PILOTTO L. S., R. M. DOUGLAS, M. D. BURCH, S. CAMERON, M. BEERS, G. J. ROUCH, P. ROBINSON, M. KIRK, C. T. COWIE, S. HARDIMAN, S. MOORE et R. G. ATTWELL. 1997. Health effects of exposure to cyanobacteria (blue-green algae) during recreational water activities. Australian and New Zealand Journal of Public Health 21: 562-566.
- PLANAS, D., M. DESROSIERS, S. R. GROULX, S. PAQUET et R. CARIGNAN. 2000. Pelagic and benthic algal responses in eastern Canadian Boreal Shield lakes following harvesting and wildfires. Canadian Journal Fisheries Aquatic Sciences 57(Suppl 2): 136-145.
- PORYVKINA, L., S. BABICHENKO, S. KAITALA, H. KUROSA et A. SHALAPYONOK. 1994. Spectral fluorescent signatures in the characterization of phytoplankton community composition. Journal of Plankton Research 16: 1315-1327.
- RAVEN, P. H., R. F. EVERT et S. E. EICHHORN. 2000. Biologie végétale. Traduction de la 6^e édition américaine. De Boeck Université, Paris, 944 pages.
- RENGEFORS, K., S. GUSTAFSSON et A. STAHL-DELBANCO. 2004. Factors regulating the recruitment of cyanobacterial and eukaryotic phytoplankton from littoral and profundal sediments. Aquatic Microbial Ecology 36: 213-226.
- REYNOLDS, C. S. 1984a The Ecology of Freshwater Phytoplankton, Cambridge University Press, Cambridge, 390 pages.

- REYNOLDS, C. S. 1984b. Phytoplankton periodicity: the interactions of form, function and environmental variability. *Freshwater Biology* 14: 111-142.
- REYNOLDS, C. S. 1987. Cyanobacterial water blooms. *Advances in Botanical Research* 13: 67-143.
- REYNOLDS, C. S. 1991. Toxic blue-green algae: the "problem" in a perspective. *Freshwater Forum* 1: 29-39.
- REYNOLDS, C. S. et A. E. WALSBY. 1975. Water-blooms. *Biological Reviews* 50: 437-481.
- REYNOLDS, C. S. et D. A. ROGERS. 1976. Seasonal variations in the vertical distribution and buoyancy of *Microcystis aeruginosa* Kutz. emend. Elenkin in Rostherne Mere, England. *Hydrobiologia* 48: 17-23.
- REYNOLDS, C. S. et E. G. BELLINGER. 1992. Patterns of abundance and dominance of the phytoplankton of Rostherne Mere, England: evidence from an 18-year data set. *Aquatic Sciences* 54: 10-36.
- REYNOLDS, C. S., G. H. M. JAWORSKI, H. A. CMIECH et G. F. LEEDALE. 1981. On the annual cycle of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kutz. Emend. Elenkin. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 293: 419-477.
- REYNOLDS, C. S., V. HUSZAR, C. KRUK, L. NASELLI-FLORES et S. MELO. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24: 417-428.
- RICHARDSON, T. L., E. LAWRENZ, J. L. PINCKNEY, R. C. GUAJARDO, E. A. WALKER, H. W. PAERL et H. L. MacINTYRE. 2010. Spectral fluorometric characterization of phytoplankton community composition using the Algae Online Analyser. *Water Research* 44: 2461-2472.
- RIPPKA, R., J. DERUELLES, J. B. WATERBURY, M. HERDMAN et R. Y. STANIER. 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology* 111: 1-61.
- ROBARTS, R. D. et T. ZOHARY. 1984. *Microcystis aeruginosa* and underwater light attenuation in a hypertrophic lake (Hartbeespoort Dam, South Africa). *Journal of Ecology* 72: 1001-1017.
- ROBARTS, R. D. et T. ZOHARY. 1987. Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 21: 391-399.
- ROELKE, D. L. et Y. BUYUKATES. 2002. Dynamics of phytoplankton succession coupled to species diversity as a system-level tool for study of *Microcystis* population dynamics in eutrophic lakes. *Limnology and Oceanography* 47: 1109-1118.
- ROGALUS, M. K. et M. C. WATZIN. 2008. Evaluation of sampling and screening techniques for tiered monitoring of toxic cyanobacteria in lakes. *Harmful Algae* 7: 504-514.
- SARTORY, D. P. et J. U. GROBBELAAR. 1984. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia* 114: 77-187.

- SCHEFFER, M., S. RINALDI, A. GRAGNANI, L. R. MUR et E. H. van NES. 1997. On the dominance of filamentous cyanobacteria in shallow turbid lakes. *Ecology* 78: 272-282.
- SCHINDLER, D. W. 1974. Eutrophication and recovery in experimental lakes: implications for lake management. *Science* 184: 897-899.
- SCHINDLER, D. W. 1977. Evolution of phosphorus limitation in lakes: natural mechanisms compensate for deficiencies of nitrogen and carbon in eutrophied lakes. *Science* 195: 260-262.
- SCHOFIELD, O., J. GRZYMSKI, W. P. BISSETT, G. J. KIRKPATRICK, D. F. MILLIE, M. MOLINE et C. S. ROESLER. 1999. Optical monitoring and forecasting systems for harmful algal blooms: Possibility or pipe dream? *Journal of Phycology* 35: 1477-1496.
- SCHOPF, J. W. et M. R. WALTER. 1982. Origin and early evolution of cyanobacteria: the geological evidence, p. 543-564, dans N. G. Carr et B. A. Whitton (éd.), *The biology of cyanobacteria*, Blackwell Scientific Publishers, Oxford.
- SCHUBERT, H. et M. HAGEMANN. 1990. Salt effects on 77k fluorescence and photosynthesis in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. Pcc-6803. *FEMS Microbiology Letters* 71: 169-172.
- SCHUBERT, H., U. SCHIEWER et E. TSCHIRNER. 1989. Fluorescence characteristics of cyanobacteria (blue-green algae). *Journal of Plankton Research* 11: 353-359.
- SEPPÄLÄ, J. et K. OLLI. 2008. Multivariate analysis of phytoplankton spectral *in vivo* fluorescence: estimation of phytoplankton biomass during a mesocosm study in the Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series* 370: 69-85.
- SEPPÄLÄ, J. et M. BALODE. 1998. The use of spectral fluorescence methods to detect changes in the phytoplankton community. *Hydrobiologia* 363: 207-217.
- SEPPÄLÄ, J., P. YLÖSTALO, S. KAITALA, S. HÄLLFORS, M. RAATEOJA et P. MAUNULA. 2007. Ship-of-opportunity based phycocyanin fluorescence monitoring of the filamentous cyanobacteria bloom dynamics in the Baltic Sea. *Estuarine, coastal and shelf science* 73: 489-500.
- SHEN, H. et L. SONG. 2007. Comparative studies on physiological responses to phosphorus in two phenotypes of bloom-forming *Microcystis*. *Hydrobiologia* 592: 475-486.
- SHIRAI, M., A. OHTAKE, T. SANO, S. MATSUMOTO, T. SAKAMOTO, A. SATO, T. AIDA, K. I. HARADA, T. SHIMADA, M. SUZUKI et M. NAKANO. 1991. Toxicity and toxins of natural blooms and isolated strains of *Microcystis* spp. (Cyanobacteria). *Applied and Environmental Microbiology* 57: 1241-1245.
- SIGMAPLOT. 2002. Pour Windows Version 8.0 Copiright © 1986-2001 SPSS Inc.
- SIMIS, S. G. H., A. RUIZ-VERDÚ, J. A. DOMÍNGUEZ-GÓMEZ, R. PEÑA-MARTINEZ, S. W. M. PETERS et H. J. GONS. 2007. Influence of phytoplankton pigment composition on remote sensing of cyanobacterial biomass. *Remote Sensing of Environment* 106: 414-427.

SIVONEN, K. 2000. Freshwater cyanobacterial neurotoxins: ecobiology, chemistry and detection, pp. 567-581, dans L.M. Botana (éd.), *Seafood and freshwater toxins*, Marcel Dekker, New York.

SIVONEN, K. et G. JONES. 1999. Cyanobacterial toxins, p.41-111, dans I. Chorus et J. Bartram (éd.), *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*, E & FN Spon, London.

SLOTH, J. K., M. G. WIEBE et N. T. ERIKSEN. 2006. Accumulation of phycocyanin in heterotrophic and mixotrophic cultures of the acidophilic red alga *Galdieria sulphuraria*. *Enzyme and Microbial Technology* 38: 168-175.

SMITH, V. H. 1983. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science* 221: 669-671.

SOMMER, U. 1989. Nutrient status and nutrient competition of phytoplankton in a shallow, hypertrophic lake. *Limnology and Oceanography* 34: 1162-1173.

STAHL-DELBANCO, A. et L. A. HANSSON. 2002. Effects of bioturbation on recruitment of algal cells from the "seed bank" of lake sediments. *Limnology and Oceanography* 47: 1836-1843.

STERNER, R. W. 1994. Seasonal and spatial patterns in macro- and micronutrient limitation in Joe Pool Lake, Texas. *Limnology and Oceanography* 39: 535-550.

STEWART, I., P. M. WEBB, P. J. SCHLUTER et G. R. SHAW. 2006. Recreational and occupational field exposure to freshwater cyanobacteria - a review of anecdotal and case reports, epidemiological studies and the challenges for epidemiologic assessment. *Environmental Health* 5: 6.

STRAUS, N. A. 1994. Iron deprivation: physiology and gene regulation. p.731-750, dans D. Bryant (éd.), *The molecular biology of cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

SUGGETT, D. J., O. PRASIL et M. A. BOROWITZKA. 2011. Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: methods and applications. *Developments in Applied Phycology* 4, Springer, Dordrecht, 323 pages.

SUKENIK, A., R. ESHKOL, A. LIVNE, O. HADAS, M. ROM, D. TCHERNOV, A. VARDI et A. KAPLAN. 2002. Inhibition of growth and photosynthesis of the dinoflagellate *Peridinium gatunense* by *Microcystis* sp. (Cyanobacteria): a novel allelopathic mechanism. *Limnology and Oceanography* 47: 1656-1663.

SUN, J. et D. Y. LIU. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 25: 1331-1346.

TANDEAU de MARSAC, N. 1977. Occurrence and nature of chromatic adaptation in cyanobacteria. *Journal of Bacteriology* 130: 82-91.

TANDEAU de MARSAC, N. T. et J. HOUMARD. 1993. Adaptation of cyanobacteria to environmental stimuli: new steps towards molecular mechanisms. *FEMS Microbiology Letters* 104: 119-189.

TAYLOR, T. N. ET E. L. TAYLOR. 1993. The Biology and Evolution of Fossil Plants. Prentice-Hall, New Jersey, 982 pages.

TEIXEIRA, M. G. L. C., M. C. N. COSTA, V. L. P. CARVALHO, M. S. PEREIRA et E. HAGE. 1993. Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica Dam, Bahia, Brazil, Bulletin of the Pan American Health Organization 27: 244-253.

TERRIAULT, J.-C., D. BOUTH, L. LEGENDRE et S. DEMERS. 1990. Phytoplankton photoadaptation to vertical excursion as estimated by an *in vivo* fluorescence ratio. Marine Ecology Progress Series 60: 97-111.

TILMAN, D., R. KIESLING, R. W. STERNER, S. S. KILHAM et F. A. JOHNSON. 1986. Green, bluegreen and diatom algae: taxonomic differences in competitive ability for phosphorus, silicon and nitrogen. Archiv für Hydrobiologie 4: 473-485.

TREMBLAY, R., S. LÉGARÉ, R. PIENITZ, W. F. VINCENT et R. I. HALL. 2001. Étude paléolimnologique de l'histoire trophique du lac Saint-Charles, réservoir d'eau potable de la communauté urbaine de Québec. Revue des Sciences de l'eau 14: 489-510.

TRIMBEE, A. M. et E. E. PREPAS. 1987. Evaluation of total phosphorus as a predictor of the relative biomass of blue-green algae with emphasis on Alberta lakes. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 44: 1337-1342.

TRIMBEE, A. M. et G. P. HARRIS. 1984. Phytoplankton population dynamics of a small reservoir: use of sedimentation traps to quantify the loss of diatoms and recruitment of summer bloom-forming blue-green algae. Journal of Plankton Research 6: 897-918.

TURNER, P. C., A. J. GAMMIE, K. HOLLINRAKE et G. A. CODD. 1990. Pneumonia associated with contact with cyanobacteria, British Medical Journal 300: 1440-1441.

UTERMÖHL, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik, Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie 9: 1-38.

UTKILEN, H. et N. GJØLME. 1995. Iron-stimulated toxin in *Microcystis aeruginosa*. Applied and Environmental Microbiology 61: 797-800.

van den HOEK, C., D. G. MANN et H. M. JAHNS. 1995. Algae: an introduction to phycology. Cambridge University Press, New-York, 623 pages.

VASUDEVAN, V., R. PRASANNA, A. SOOD et B. D. KAUSHIK. 2007. Enhancing pigment accumulation in *Anabaena* strains using sugars. Acta Botanica Hungarica 49: 187-198.

VENRICK, E. L. 1978. How many cells to count?, p.167-180, dans A. SOURNIA (éd.), Phytoplankton manual., Paris, UNESCO.

VENUGOPAL, V., R. PRASANNA, A. SOOD, P. JAISWAL et B. D. KAUSHIK. 2006. Stimulation of pigment accumulation in *Anabaena azollae* strains: effect of light intensity and sugars. Folia Microbiologica 51: 50-56.

VERSPAGEN, J. M. H., E. O. F. M. SNELDER, P. M. VISSER, J. HUISMAN, L. R. MUR et B. W. IBELINGS. 2004. Recruitment of benthic *Microcystis* (Cyanophyceae) to the water column:

internal buoyancy changes or resuspension? *Journal of Phycology* 40: 260-270.

VINCENT, W. F. 1983. Fluorescence properties of the plankton: three algal classes compared. *British Journal of Phycology* 18: 5-21.

VINCENT, W. F. 1989. Cyanobacterial growth and dominance in two eutrophic lakes: review and synthesis. *Archiv für Hydrobiologie* 32: 239-254.

VINER, A. B. et I. R. SMITH. 1973. Geographical, historical and physical aspects of Lake George. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 184: 235-270.

VISSER, P. M., B. W. IBELINGS, L. R. MUR et A. E. WALSBY. 2005. The ecophysiology of the harmful cyanobacterium *Microcystis*, p.109-142, dans J. Huisman, H. C. P. Matthijs et P. M. Visser (éd.), *Harmful Cyanobacteria*, Springer, Dordrecht.

WALSBY, A.E. 1994. Gas vesicles. *Microbiological Reviews* 58: 94-144.

WALSBY, A. E., C. S. REYNOLDS, R. L. OLIVER et J. KROMKAMP. 1989. The role of gas vacuoles and carbohydrate content in the buoyancy and vertical distribution of *Anabaena minutissima* in Lake Rotongaio, New Zealand. *Archiv für Hydrobiologie/Ergebnisse der Limnologie* 32: 1-25.

WALSBY, A. E. et G. K. McALLISTER. 1987. Buoyancy regulation by *Microcystis* in Lake Okaro. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 21: 521-524.

WALSBY, A. E., H. C. UTKILEN et I. J. JOHNSEN. 1983. Buoyancy changes of a red coloured *Oscillatoria agardhii* in Lake Gjersjoen, Norway. *Archiv für Hydrobiologie* 97: 18-38.

WATZIN, M. C., E. B. MILLER, A. D. SHAMBAUGH et M. A. KREIDER. 2006. Application of the WHO alert level framework to cyanobacterial monitoring of Lake Champlain, Vermont. *Environmental Toxicology* 21: 278-288.

WEHR, J. D. et R. G. SHEATH. 2003. *Freshwater algae of North America. Ecology and Classification*. Academic Press, San Diego, 918 pages.

WU, Z.X. et L. R. SONG. 2008. Physiological comparison between colonial and unicellular forms of *Microcystis aeruginosa* Kutz. (Cyanobacteria). *Phycologia* 47: 98-104.

YAMANAKA, G. et A. N. GLAZER. 1980. Dynamic aspects of phycobilisome structure. Phycobilisome turnover during nitrogen starvation in *Synechococcus* sp. *Archives of Microbiology* 124: 39-47.

YENTSCH, C. S. 1965. Distribution of chlorophyll and phaeophytin in the open ocean. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts* 12: 653-666.

YENTSCH, C. S. et D. W. MENZEL. 1963. A method for determination of chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts* 10: 221-231.

YENTSCH, C. S. et C. M. YENTSCH. 1979. Fluorescence spectral signatures - characterization of phytoplankton populations by the use of excitation and emission-spectra. *Journal of Marine Research* 37: 471-483.

YENTSCH, C. S. et D. A. PHINEY. 1985. Spectral fluorescence: an ataxonomic tool for studying the structure of phytoplankton populations. *Journal of Plankton Research* 7: 617-632.

YOO, R. S., W. W. CARMICHAEL, R. C. HOEHN et S. E. HRUDEY. 1995. Cyanobacterial (blue-green algal) toxins: a resource guide, AWWA Research Foundation & AWWA, Denver, 229 pages.

YSI. 2006. 6-Series Multiparameter Water Quality Sondes, User Manual, YSI Incorporated, Yellow Sping, 372 pages.

YU, S. Z. 1995. Primary prevention of hepatocellular carcinoma. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 10: 674-682.

ZIEGMANN, M., M. ABERT, M. MULLER et F. H. FRIMMEL. 2010. Use of fluorescence fingerprints for the estimation of bloom formation and toxin production of *Microcystis aeruginosa*. *Water Research* 44: 195-204.

ZOHARY, T. et R. D. ROBARTS. 1989. Diurnal mixed layers and the long-term dominance of *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Plankton Research* 11 :25-48.

Annexe

Annexe A : Taxons de phytoplancton identifiés au lac Saint-Charles

Tableau 1. Liste des taxons de phytoplancton identifiés au lac Saint-Charles en 2007 et 2008.

<p>Bacillariophycées <i>Aulacoseira</i> sp. <i>Asterionella</i> sp. <i>Cyclotella</i> ssp. <i>Chaetoceros muelleri</i> <i>Diatoma</i> sp. <i>Fragilaria</i> sp. <i>Melosira</i> cf. <i>binderana</i> <i>Melosira</i> cf. <i>varians</i> <i>Navicula</i> cf. <i>radiosa</i> <i>Rhizosolenia</i> cf. <i>eriansis</i> <i>Synedra</i> sp. <i>Tabellaria</i> sp.</p>	<p>Chlorophycées (suite) <i>Hyalotheca mucosa</i> <i>Merismopedia</i> cf. <i>punctata</i> <i>Micratinium</i> sp. <i>Microspora</i> sp. <i>Oocystis</i> sp. <i>Pediastrum</i> cf. <i>obtusum</i> <i>Pediastrum tetras</i> cf. <i>Quadrigula closterioides</i> <i>Scenedesmus</i> cf. <i>armatus</i> <i>Staurastrum</i> cf. <i>gladiosum</i> <i>Staurastrum</i> cf. <i>obiculare</i> <i>Staurodesmus</i> sp. <i>Tetrabaena</i> sp. cf. <i>Tetraedron caudatum</i> <i>Tetraspora</i> sp.</p>	<p>Cyanobactéries <i>Anabaena</i> cf. <i>flos-aquae</i> <i>Aphanocapsa</i> sp. <i>Aphanocapsa</i> cf. <i>elachista</i> <i>Aphanocapsa</i> cf. <i>incerta</i> cf. <i>Aphanothece microspora</i> <i>Chroococcus</i> sp. <i>Coelosphaerium</i> <i>Cyanodictyon imperfectum</i> <i>Eucapsis</i> sp. cf. <i>Gloeocapsa</i> cf. <i>Gomphosphaeria</i> sp. <i>Merismopedia</i> cf. <i>punctata</i> <i>Microcystis</i> cf. <i>aeruginosa</i> cf. <i>Oscillatoria</i> sp. cf. <i>Phormidium</i> sp. <i>Pseudoanabaena</i> sp. <i>Snowella</i> sp. cf. <i>Woronichinia</i> sp.</p>
<p>Chlorophycées cf. <i>Asterococcus</i> sp. cf. <i>Botryococcus</i> sp. cf. <i>Chlamydomonas</i> sp. <i>Chodatella</i> cf. <i>quadriseta</i> <i>Closterium</i> sp. <i>Closteriopsis</i> sp. <i>Coelastrum</i> sp. <i>Crucigenia tetrapedia</i> <i>Dictyosphaerium</i> sp. cf. <i>Eudorina elegans</i> <i>Gloeocystis</i> sp. cf. <i>Gloeotheca linearis</i> cf. <i>Golenkinia radiata</i> <i>Haematococcus</i> sp.</p>	<p>Chrysophycées <i>Dinobryon</i> cf. <i>divergens</i> <i>Mallomonas</i> sp. <i>Synura</i> sp. <i>Uroglena</i> sp.</p>	<p>Dinophycées <i>Ceratium hirundinella</i> <i>Gymnodinium</i> spp. <i>Peridinium</i> spp. cf. <i>Rufusiella</i> sp.</p>
	<p>Cryptophycées cf. <i>Cryptomonadaceae</i> cf. <i>Cryptomonas</i></p>	<p>Euglenophycées <i>Euglena</i> ssp. <i>Phacus</i> ss <i>Trachelomonas</i> ssp.</p>

