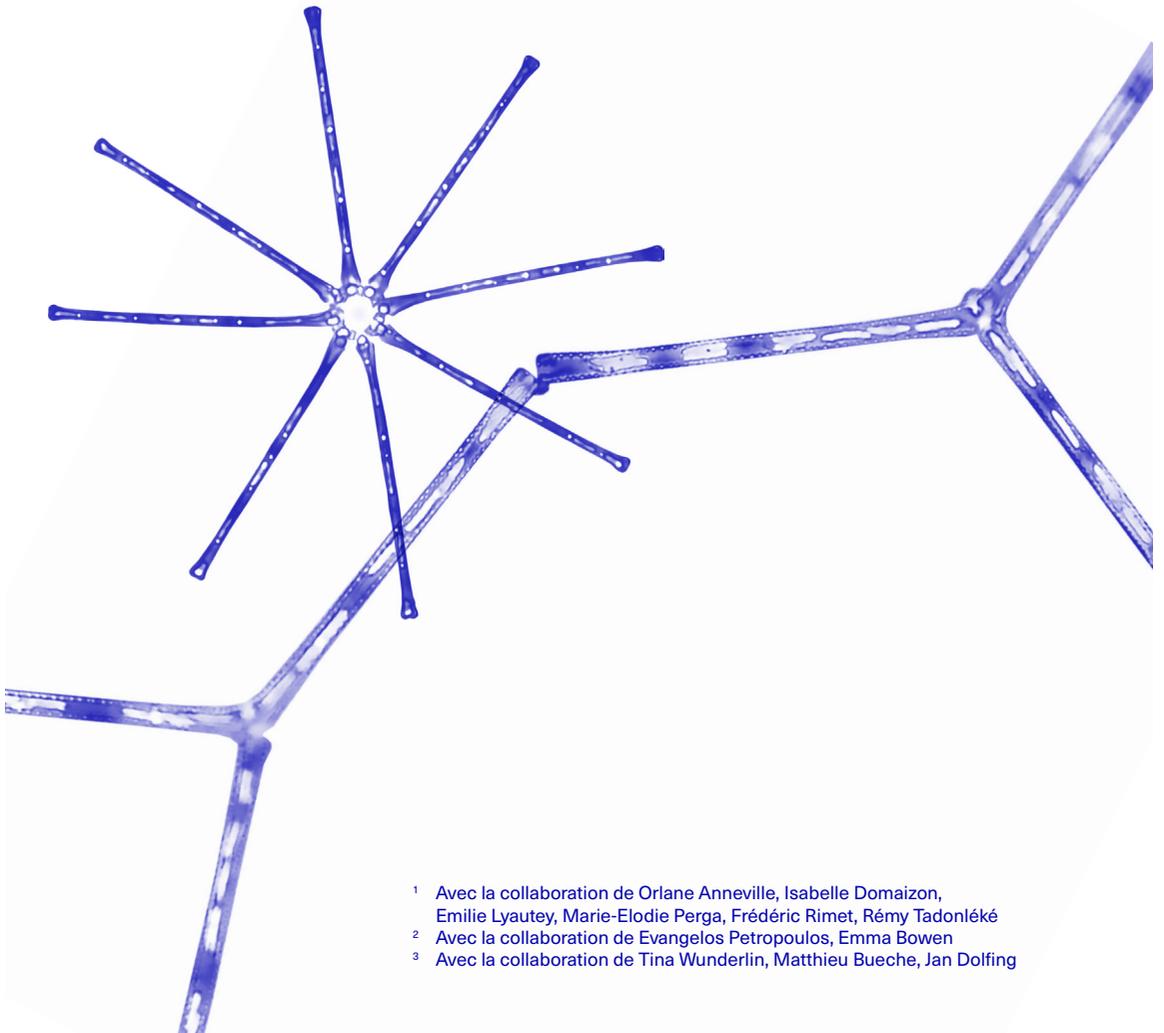


# VI

# Microbiologie

Stéphan Jacquet<sup>1</sup>  
Jakob Zopfi  
Helmut Brandl  
Tom Curtis<sup>2</sup>  
Pilar Junier<sup>3</sup>



<sup>1</sup> Avec la collaboration de Orlane Anneville, Isabelle Domaizon, Emilie Lyautey, Marie-Elodie Perga, Frédéric Rimet, Rémy Tadonlécé

<sup>2</sup> Avec la collaboration de Evangelos Petropoulos, Emma Bowen

<sup>3</sup> Avec la collaboration de Tina Wunderlin, Matthieu Bueche, Jan Dolfing

A peine visibles, voire totalement invisibles à l'œil nu, les organismes microscopiques, ou micro-organismes, sont partout. Abondants et diversifiés, ils sont aussi caractérisés par une large palette de rôles ou de fonctions (producteurs de matière, consommateurs, proies, décomposeurs, parasites) qui les rendent essentiels dans le fonctionnement écologique des lacs. De taille comparable ou jusqu'à 1 million de fois plus petits qu'une tête d'épingle, certains vivent en pleine eau et se laissent porter par les courants (plancton), alors que d'autres sont plutôt typiques des substrats meubles (sédiments) ou durs (cailloux, rochers, épaves, etc.). Certains sont des indicateurs de la qualité de l'eau. Le projet *elemo* a été l'occasion d'étudier, en plus de la zone de pleine eau, les micro-organismes présents dans le sédiment. Mais les recherches sur la vie microbienne dans le Léman ont occupé les chercheurs bien avant l'arrivée des submersibles *MIR 1* et *MIR 2*. Elles ont débuté dans les années 1880 avec l'étude des microbes planctoniques uniquement dans la colonne d'eau et non dans les sédiments<sup>[1]</sup>. Un des premiers rapports écrits par Hermann Fol et Pierre Louis Dunant en 1884<sup>[2]</sup> porte sur des échantillons d'eaux de surface recueillis entre 0,1 et 2,5 mètres de profondeur puis analysés au moyen d'une technique nouvellement mise au point et utilisant du matériel d'échantillonnage stérilisé<sup>[3]</sup>. Placés sur milieu nutritif, ces prélèvements révélèrent alors jusqu'à 250 unités formant des colonies (ou plaques) par millilitre d'eau. Quelques années plus tard, une étude plus approfondie dénombra plus de 6 millions de germes par litre dans les eaux de surface<sup>[4]</sup>. François Alphonse Forel mentionne la présence de microbes dans la vase et suggère également d'étudier leur présence dans les sédiments profonds<sup>[5]</sup> en 1892<sup>Chap. 1</sup>. Les études menées jusque-là n'essayaient toutefois pas de caractériser la microflore en détail au niveau des genres ou des espèces. Il faut attendre 1914 pour que Charles-Jules Lavanchy isole et décrive plus de 20 nouvelles espèces de *bactéries aérobies* récoltées dans des eaux entre 4 et 21 mètres de profondeur<sup>[6]</sup>. Le nom donné à plusieurs bactéries est d'ailleurs directement inspiré par l'emplacement géographique en lien avec le Léman (*Bacterium genevense*, *Pseudomonas genevensis*, *Bacterium lemanense*, etc.) ou par le nom de scientifiques locaux (*Pseudomonas folii*, etc.). Lavanchy isole également un certain nombre de *levures*, sans toutefois les décrire. Cette liste de micro-organismes est étoffée et complétée par Auguste Marca en 1927<sup>[7]</sup> sur la base de ses propres travaux et des études de Lavanchy<sup>[6]</sup> et Vera Grouitch<sup>[8]</sup>. Cependant, en comparant les descriptions de ces

**Bactéries aérobies**

Bactérie pouvant utiliser l'oxygène lors d'une respiration.

**Levures**

Un type de micro-organisme eucaryote (avec un noyau). Les levures sont très utilisées dans l'industrie alimentaire pour la production du pain ou de la bière.

**La vie en surface**

**Isolat**

Culture d'un micro-organisme issu d'une manipulation de laboratoire permettant d'isoler et de ne travailler qu'avec une seule population microbienne extraite d'une communauté complexe. Chaque isolat représente donc une unité de la communauté (population d'un même organisme) que l'on peut ensuite étudier plus en détail.

**Unités taxonomiques**

Le concept d'espèce chez les micro-organismes est toujours un sujet de dispute. Les chercheurs utilisent plutôt le concept d'« unité taxonomique » où les organismes sont classés en fonction de leur similitude en termes de matériel génétique.

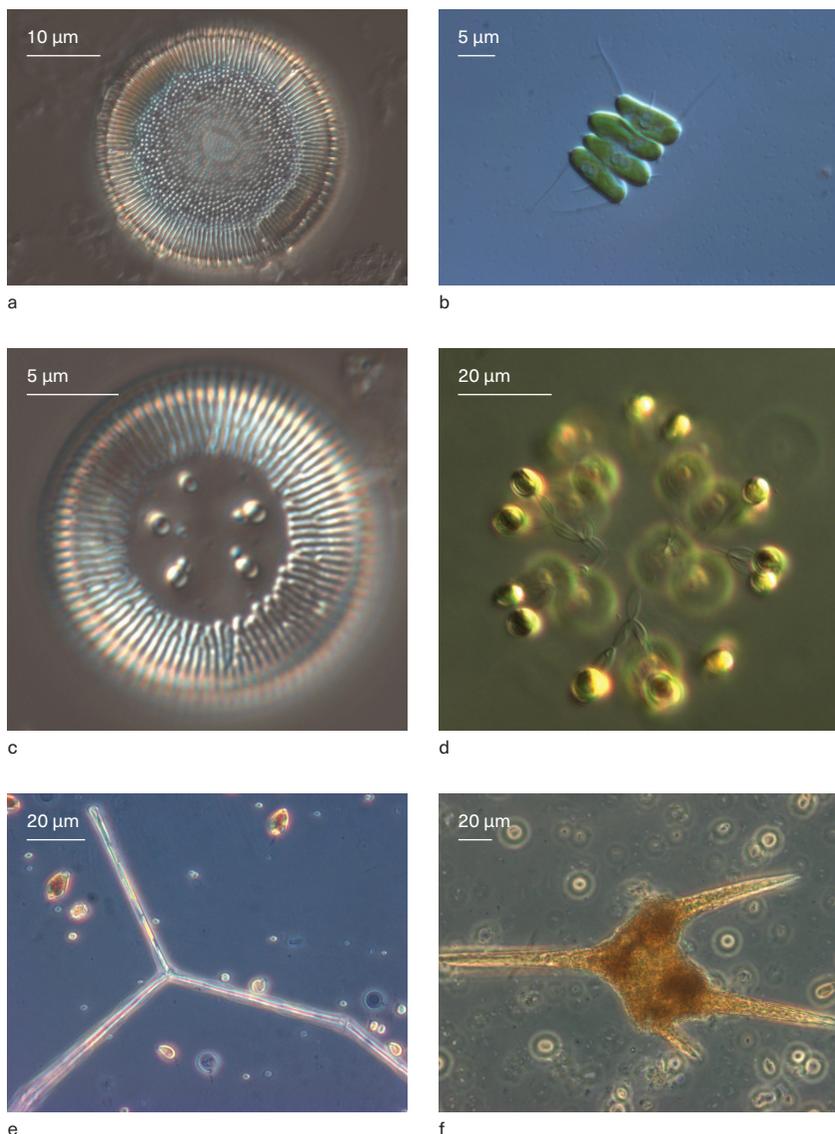
**Réseaux trophiques**

Ensemble de chaînes alimentaires reliées entre elles au sein d'un écosystème et par lesquelles l'énergie et la biomasse circulent. Il désigne l'ensemble des relations trophiques existant parmi des êtres vivants coexistant dans un même milieu.

espèces avec la nomenclature bactérienne récente, il apparaît que bien de ces *isolats* aient été perdus, renommés ou re-classifiés et il est difficile d'en retrouver la trace.

S'immerger dans le Léman, c'est d'abord profiter de la lumière et de températures clémentes (à certaines périodes de l'année) dans les premiers mètres. C'est dans cette zone que se développe le phytoplancton composé essentiellement de micro-algues chlorophylliennes<sup>Fig. 1</sup> qui, via la photosynthèse, produisent de l'oxygène. Elles se développent grâce à l'énergie solaire, au gaz carbonique et aux éléments nutritifs (phosphore, azote, etc.) présents dans l'eau, transformant ainsi des éléments inertes en matière « vivante ». Caractérisées par de très nombreuses espèces que l'on regroupe dans différentes classes suivant des critères de taille, de forme et de contenus en pigments, ces micro-algues servent aussi de proies pour une multitude d'animaux comme les microcrustacés, les mollusques, etc. Leur rôle est donc primordial et il est à la hauteur du nombre d'espèces ou *unités taxonomiques* décrit à ce jour au cours des 150 dernières années en microscopie. Déjà plus de 1000 pour le Léman recensés entre 0 et 20 mètres de profondeur, même si en général, ce sont environ 100 taxons différents qui sont observés au cours d'une année avec une importance relative variant au cours des mois<sup>[9]</sup>.

Ce phytoplancton produit de la matière inorganique, source de nourriture pour d'autres organismes du même écosystème, incapables de synthétiser eux-mêmes la matière dont ils ont besoin. Une partie de la matière ainsi produite, appelée production primaire (PP), est directement consommée par le plancton animal. L'importance de la PP en recherche réside dans le fait qu'elle est l'une des meilleures variables pour comprendre comment les écosystèmes aquatiques répondent aux changements environnementaux globaux (les changements climatiques par exemple) ou locaux (la réduction des apports de nutriments par exemple) pour la restauration de l'écosystème. La vitesse de production de la matière par le phytoplancton est en effet fortement influencée par les conditions qui prévalent dans l'environnement. Dans le Léman, les mesures de PP se font, depuis les années 1990, principalement dans la couche d'eau située entre la surface et 20 mètres de profondeur. Des travaux menés au *CARTEL* (Centre alpin de recherches sur les *réseaux trophiques* et écosystèmes limniques) ont ainsi montré que le réchauffement des eaux du Léman, dû au changement climatique, a affecté la PP de façon très différente selon que les nutriments étaient abondants ou non.



**Fig. 1** Une grande diversité de micro-algues: [a] *Cyclotella bodanica* var *bodanica*; [b] *Scenedesmus spinosus*; [c] *Cyclotella ocellata*; [d] *Dictyosphaerium pulchellum*; [e] *Diatoma elongatum*; [f] *Ceratium hirundinella*. Images prises par F. Rimet. L'échelle est indiquée dans chaque image.

Ceci a permis d'envisager différents scénarios de l'influence du réchauffement des eaux sur la capacité de produire de la matière vivante dans des lacs de différents états trophiques<sup>[1]</sup>. La vitesse moyenne de production de la matière sous forme de carbone dans le Léman de 2010 à 2013 a été d'environ 0,115 gramme de carbone par mètre cube et par heure. Sur cette base, et sachant que ce processus ne se fait qu'en présence de la lumière, on peut estimer que le phytoplancton présent dans 100 000 mètres cubes d'eau du Léman (soit une petite partie de la zone où se fait cette production) produirait 40 tonnes de carbone en 386 jours, c'est-à-dire en à peine plus d'un an. Cette durée est encore plus courte si l'on étend le calcul à l'ensemble de la zone du lac où se fait la production du phytoplancton. Cela représente du gaz carbonique puisé dans l'atmosphère par le phytoplancton et donne une idée de l'importance de la production algale dans le Léman et du captage de ce gaz par ces organismes. Notons toutefois qu'une grande partie de cette production va être minéralisée pendant la nuit ou en profondeur puis relarguée vers l'atmosphère (surtout en hiver), si bien qu'à l'échelle annuelle, le Léman doit être considéré plus comme une source de CO<sub>2</sub> vers l'atmosphère qu'un puits de carbone.

Flagellés, ciliés, champignons, bactéries, archées, virus... la diversité des communautés de micro-organismes qui peuplent le Léman, depuis la surface jusqu'au fond, ne s'arrête pas au phytoplancton mais ne peut souvent être appréciée qu'avec des outils analytiques complexes. Le développement d'outils moléculaires a permis de porter un regard nouveau sur la diversité planctonique, notamment en extrayant, séquençant et analysant l'ADN de ces communautés. Les études menées dans le Léman ont notamment mis en évidence la très vaste diversité des micro-organismes non bactériens. En période estivale, jusqu'à 1017 taxons ont été discriminés par *séquençage* massif dans la zone éclairée du lac<sup>[10]</sup>. Parmi ce millier de taxons: des espèces phytoplanctoniques mais aussi des espèces prédatrices des bactéries (ciliés notamment) ou encore des parasites s'attaquant au phytoplancton et des espèces encore non décrites dont on ignore le rôle précis. Une grande majorité de cette diversité semble se présenter sous forme de taxons dits « rares », c'est-à-dire présents en faible abondance dans le milieu, mais pouvant néanmoins exercer des rôles spécifiques et importants.

Si la vie abonde dans la zone de pleine eau du lac, le bord du Léman n'est pas en reste. Sur les pierres, entre la surface et les quelques mètres en dessous, des micro-algues benthiques

#### Séquençage

Technique pour déterminer l'ordre précis des nucléotides le long d'une molécule d'ADN.

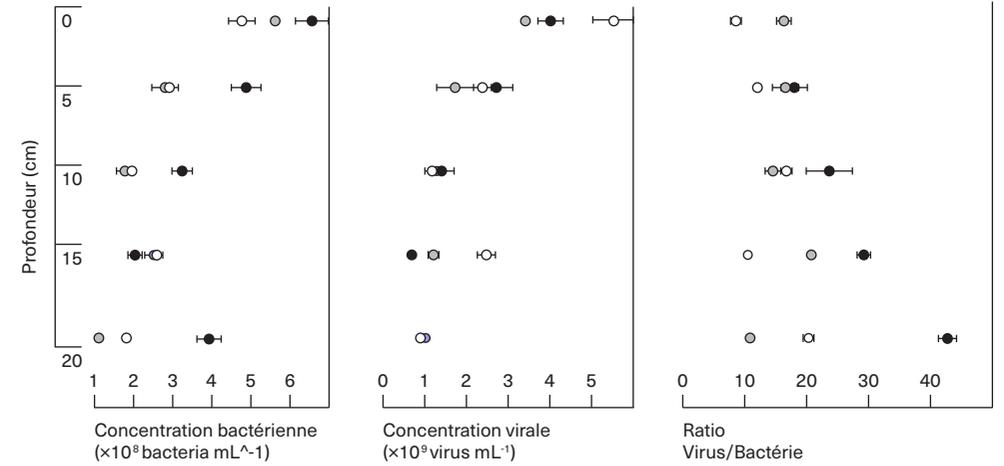
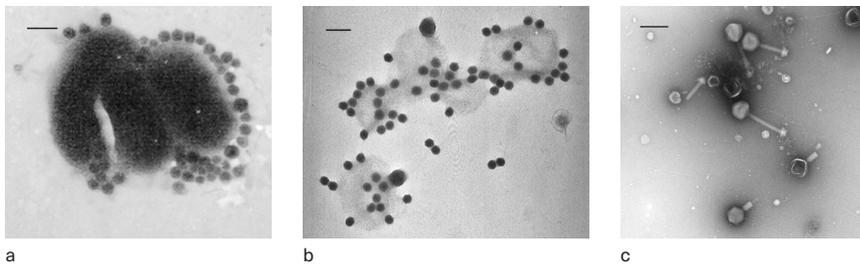
## Les virus du Léman

Parmi les micro-organismes qui abondent dans l'obscurité des profondeurs lémaniques, on note la présence de procaryotes (bactéries surtout et archées) et de virus. Ces communautés biologiques sont fortement liées et il est probable que la plupart des virus présents à ces profondeurs soient des tueurs de bactéries, appelés bactériophages ou phages. D'ailleurs on sait depuis peu que la mortalité des bactéries due aux virus dans ces eaux, au-delà de 100 mètres de profondeur, est élevée : elle peut atteindre 40% voire plus.

Parallèlement au projet *elmo*, d'autres expériences ont pu être menées, notamment pour évaluer l'importance quantitative du compartiment viral. Il a été constaté que les concentrations virales variaient entre 0.7 et 5.5 milliards de particules par millilitre ou gramme de sédiment, tandis que les concentrations des procaryotes hétérotrophes (bactéries et archées) variaient entre 0.1 et 0.65 milliards

de cellules par millilitre ou gramme de sédiment. Une forte corrélation existait entre ces communautés suggérant un lien fort entre elles. Ces concentrations étaient significativement différentes entre les carottes étudiées mais la tendance à diminuer avec la profondeur était assez similaire, comme le révèle la Fig 3. Comme cela a déjà été signalé pour d'autres écosystèmes, l'abondance de ces communautés dans les sédiments (i) est plus grande que dans la colonne d'eau, (ii) varie fortement et diminue avec la profondeur du sédiment. Ces fortes concentrations suggèrent une production virale importante et donc des capacités métaboliques élevées des procaryotes dans les sédiments pour assurer la prolifération des virus qui dépendent de l'état physiologique de leurs hôtes. Des événements de lyse cellulaire pourraient donc être importants dans les sédiments, intervenant dès lors sur les flux de carbone et d'autres éléments nutritifs.

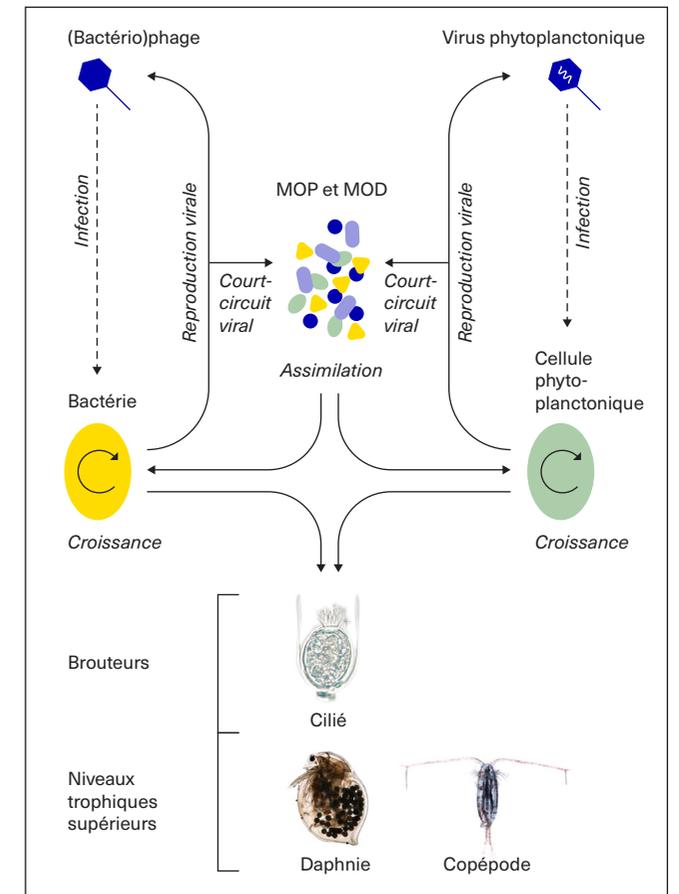
**Fig. 2** [a] Cellule bactérienne infectée de virus prête à être lysée, [b] Virus de microalgues libres et [c] Phages. Echelle dans les images = 100 nm



- Proximal (P9)
- Intermediate (P7)
- Distal (P6)

**↑ Fig. 3** Représentation de l'évolution des concentrations en virus et en procaryotes hétérotrophes dans les premiers 20 centimètres de sédiment pour 3 échantillons collectés sur divers sites prospectés au cours du projet *elmo*.

**→ Fig. 4** La lyse des cellules planctoniques induite par l'action lytique virale entraîne la mort cellulaire mais également la libération dans le milieu ambiant de matière organique dissoute (MOD) et particulaire (MOP), réinjectées au sein de la boucle microbienne. Cette matière va profiter aux cellules non infectées pour leur croissance. On parle de court-circuit viral, la matière organique restant à disposition des microorganismes et n'étant donc pas transférée via la prédation (brouillage directe par les flagellés typiquement) vers les maillons trophiques supérieurs (gros protistes, méta-zooplankton, larves de poissons).



### Diatomées

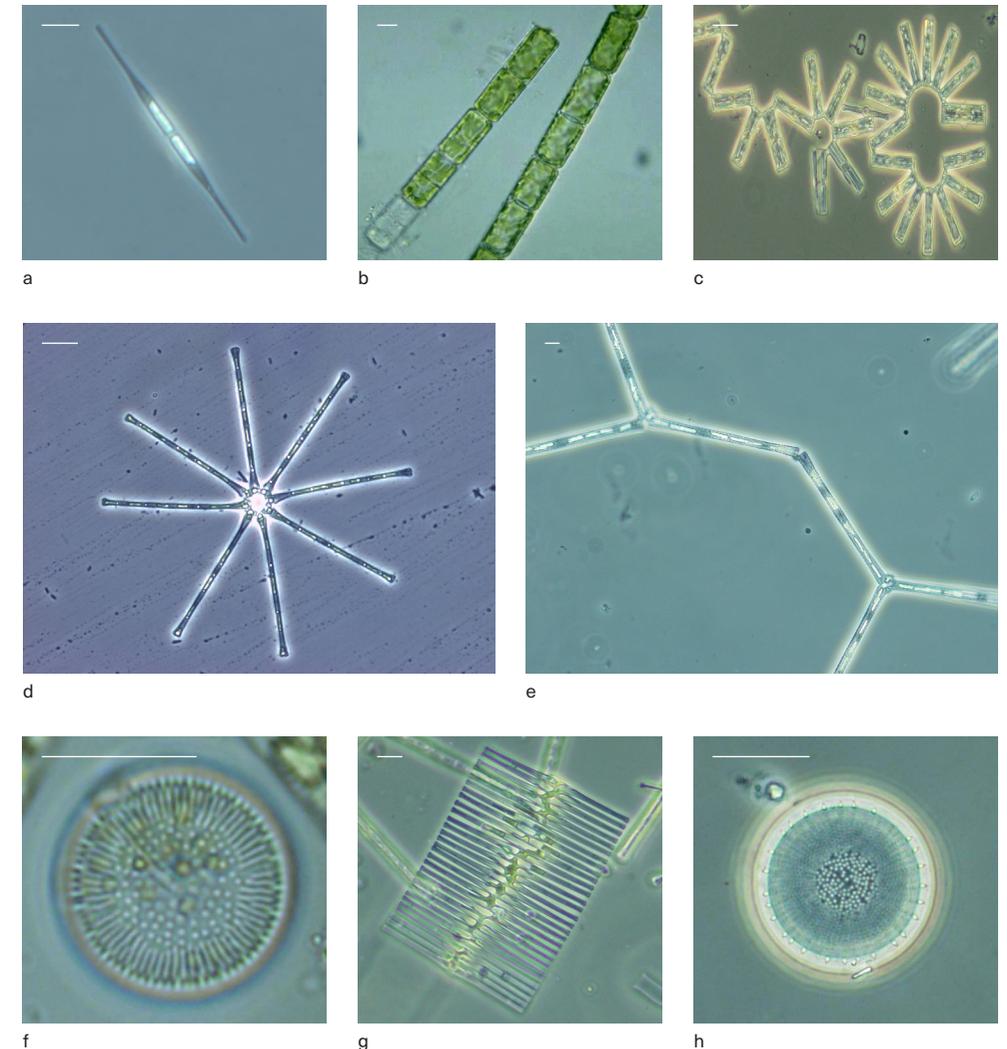
Algues unicellulaires de dimension microscopique présentes dans tous les milieux aquatiques et enveloppées par un squelette externe siliceux.

(accrochées aux substrats) se développent en grand nombre. Leur diversité en espèces semble même plus importante que celle qui est trouvée pour le phytoplancton. Ces micro-algues appartiennent principalement à la *classe de diatomées* Fig. 5. La composition de leurs communautés change en fonction des saisons et est fortement corrélée à la concentration en phosphore du lac. On observe également une hétérogénéité importante de leur composition qui est liée à la pression anthropique locale. Par exemple, les côtes situées près de Lausanne présentent plus souvent des espèces de diatomées caractéristiques des eaux riches en nutriments Chap. 8, alors que les côtes situées entre Thonon et Yvoire présentent des espèces caractéristiques des eaux plus pauvres en nutriments. Ces micro-algues fournissent des informations sur l'état des rives et la présence de pollutions ponctuelles Chap. 8 et sont donc un indicateur biologique très intéressant de l'état écologique.

Les micro-organismes constituent la base de nombreuses chaînes alimentaires soit à partir de la photosynthèse soit à partir du recyclage des matières organiques détritiques. Mais ces particules et organismes sont trop petits pour être directement consommés par les poissons. Le transfert de cette énergie vers les maillons supérieurs de la chaîne implique notamment la médiation par le zooplancton (ou plancton animal). Comme pour les groupes microplanctoniques, le zooplancton regroupe en fait des organismes extrêmement divers. On a dénombré jusqu'à présent dans le Léman environ 250 taxons entre 0 et 50 mètres de profondeur, qui incluent des animaux parfois surprenants, tels que des mollusques (les stades larvaires de moules zébrées) ou des méduses d'eau douce. Ce sont surtout quelques dizaines d'espèces qui sont observées tout au long de l'année et qui peuvent atteindre des concentrations de plusieurs centaines de milliers d'individus par mètre carré. Les plus connues appartiennent au groupe des microcrustacés avec des espèces emblématiques telles que la puce d'eau ou Daphnie. Ces microcrustacés occupent un rôle clé puisqu'ils sont capables de réguler la quantité d'algues dans l'eau au point de notamment lui rendre sa transparence après le pic printanier de production algale (ou phase des eaux claires observée chaque année sur le Léman entre mai et juin), mais ils sont aussi un aliment de choix, notamment pour les jeunes poissons. Même si les plus connus sont des brouteurs, les modes d'alimentation du zooplancton sont très divers, au point que ce compartiment animal héberge des chaînes alimentaires complètes, avec des prédateurs-chasseurs à l'affût ou des parasites se nourrissant de sang de poissons.

**Fig. 5** La diversité morphologique des diatomées:

- [a] *Nitzschia acicularis*;
  - [b] *Melosira varians*;
  - [c] *Tabellaria flocculosa*;
  - [d] *Asterionella formosa*;
  - [e] *Diatoma tenuis*;
  - [f] *Cyclotella radiosa*;
  - [g] *Fragilaria crotonensis*;
  - [h] *Stephanodiscus neoastraea*.
- Echelle dans les images = 10 µm



Le rôle écologique de certains groupes taxonomiques, tels que les rotifères, organismes souvent mous reconnaissables par la couronne de cils sur leur sommet, est encore peu étudié.

Une partie importante de la matière organique qui se déplace vers le fond du lac n'est pas perdue. Bactéries et champignons vont la décomposer et la recycler pour fournir des éléments minéraux utilisables par les producteurs (phytoplancton en particulier). Ce recyclage s'opère dans la masse d'eau ou sur le fond du lac. On estime que jusqu'à 90% de la matière organique produite dans les eaux de surface, éclairées, est

dégradée lors de son voyage vers les eaux profondes. En définitive, quelques millimètres de matière organique et minérale se déposent chaque année au fond du lac <sup>Chap. 5</sup>. Les sédiments profonds du Léman abritent une vie et une activité microbiennes intenses, même en conditions a priori « défavorables », c'est-à-dire dans des eaux à 4 ou 5°C, une obscurité totale et une forte pression exercée par la colonne d'eau. La vie au fond du lac demeure encore largement méconnue; beaucoup reste à y découvrir et à y comprendre. Les sous-marins utilisés au cours du projet *elemo* ont permis de prélever des carottes de sédiment <sup>Chap. 5</sup> afin d'étudier les communautés bactériennes et archées dans leur ensemble. En s'appuyant sur la recherche de morceaux d'ADN spécifiques à chacune de ces communautés, il a pu être mis en évidence que ces communautés bactériennes et archéennes étaient diversifiées, avec un ensemble de plus de 130 types bactériens et environ 40 types d'archées. Ces procaryotes se répartissent différemment dans la profondeur des carottes de sédiment, notamment sous l'effet des accepteurs d'électrons terminaux disponibles.

D'un sous-marin à l'autre: la microbiologie des sédiments à l'époque de F.-A. Forel puis de MIR

Ce sont certainement plusieurs centaines à milliers d'espèces microbiennes différentes qui interagissent chaque jour dans la colonne d'eau jusqu'au fond du lac. Le rôle joué par l'ensemble de ces espèces microscopiques sur le fond du lac et dans les sédiments est primordial dans le fonctionnement du lac. Reste à l'étudier en détail car force est de constater que nos connaissances sont toujours fragmentaires, même 150 ans après que Forel ait souligné l'importance de la vie des obscurités du Léman. Le projet *elemo* a permis de mettre en exergue combien notre méconnaissance des abysses est encore grande et que beaucoup reste à découvrir sur l'identité et le rôle de la vie microscopique du plus grand lac naturel d'Europe occidentale.

Comme cela a été décrit au début de ce chapitre, la communauté microbienne dans les sédiments du Léman est riche et variée <sup>Fig. 6</sup>. C'est cette diversité qui lui permet d'assurer tout un éventail de fonctions; parmi elles, la dégradation de la matière organique. Celle provenant de la prolifération des algues ou du plancton coule au travers de la colonne d'eau jusqu'au fond du lac (on parle de sédimentation) et alimente ce que l'on appelle la pompe biologique. Cette matière est partiellement décomposée, dans les premiers centimètres du sédiment par différents microbes utilisant de l'oxygène (respiration aérobie) ou d'autres molécules (comme le sulfate) en cas de *respiration anaérobie*.

#### Respiration anaérobie

A la différence des animaux, certains micro-organismes peuvent respirer en utilisant un accepteur d'électrons autre que l'oxygène, tel que les sulfates, les nitrates ou le fer ferrique.

**Fig. 6** Photomicrographie de matière sédimentaire montrant une grande diversité de cellules bactériennes: [a] des petites cellules unicellulaires; [b] des bactéries filamenteuses sulfuroxydantes; [c] des spirochètes (longues cellules flexibles en forme de tire-bouchon); [d] des grandes diatomées (*Fragilaria* sp.) ainsi que [e] de la matière organique amorphe brune. Echelle dans l'image = 10 µm.



Pour évaluer ce processus de dégradation, une expérience a été menée. Différents types de matières organiques solides comme des morceaux de poissons, des mouchoirs en papier, de l'avoine, du lard ou du foin ont été placés dans de fins filets de nylon puis enfouis dans des formations sédimentaires appelées coussins <sup>Chap. 5</sup> à une profondeur de 250 mètres. Ils ont été récupérés après 13 mois en immersion <sup>[1]</sup>. La perte de poids de ces matières était considérée comme un indicateur de la dégradation assurée par les micro-organismes. Le poisson (en tant que marqueur principal de protéines) était entièrement dégradé alors que le lard (marqueur principal de graisses ou lipides) avait perdu seulement 9% de son poids après tout ce temps passé sur le fond lacustre.

#### Activité microbienne dans les sédiments en coussins

#### Soluté

Tout composé dissout, y compris les sels inorganiques tels que cations, anions, gaz, aussi bien que des composés organiques.

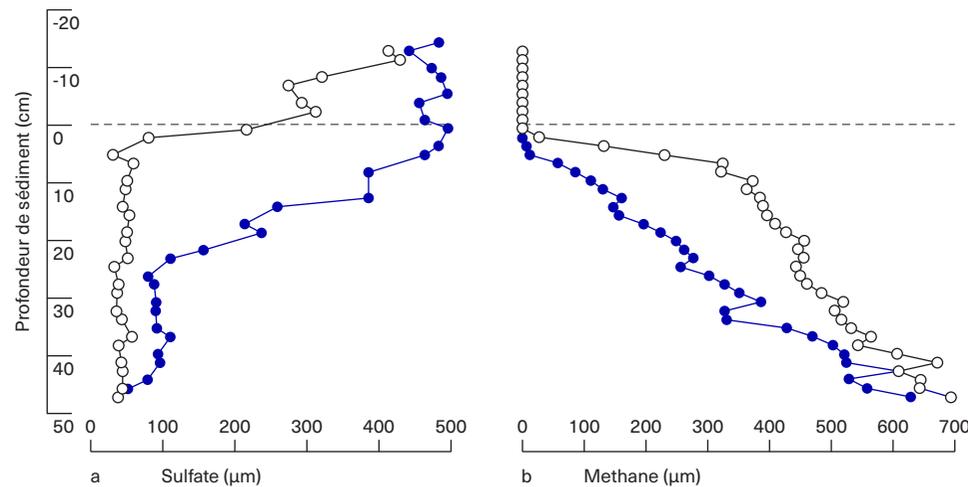
Pour comprendre comment la matière organique est dégradée dans les sédiments et par quels mécanismes, et pour savoir en quelles quantités les nutriments sont diffusés à partir des sédiments dans la colonne d'eau, les géochimistes et limnologues déterminent les profils de concentration des *solutés* dans l'eau interstitielle des sédiments et calculent les flux de diffusion à travers l'interface eau-sédiment. Ces mesures se font, de nos jours, au moyen de microcapteurs électrochimiques permettant une résolution en profondeur d'environ 100 micromètres. La pente de la diminution de l'oxygène dans la carotte sédimentaire et la profondeur de pénétration de l'O<sub>2</sub> sont en lien direct avec la consommation d'oxygène dans le sédiment et

### Biomarqueur

Tout indicateur mesurable de la présence des groupes bactériens spécifiques ou de l'activité biologique. Ceci inclut l'ADN, des lipides de membrane, ou – comme utilisé dans le contexte de ce chapitre – des composés dissous dans l'eau interstitielle qui sont indicatifs d'un processus spécifique (par exemple le méthane pour des méthanogènes ou des concentrations décroissantes de sulfate ou de nitrate pour les bactéries sulfato- ou nitrate-réductrices).

**Fig. 7** Les flux de sulfate [a] et de méthane [b] dissous dans l'eau interstitielle sont plus élevés d'un facteur de 2 à 3 dans les sédiments coussins (bleu) par comparaison aux fossés (blanc). La ligne pointillée représente la limite entre la colonne d'eau et le sédiment.

- Coussin (fossé)
- Coussin (haut)



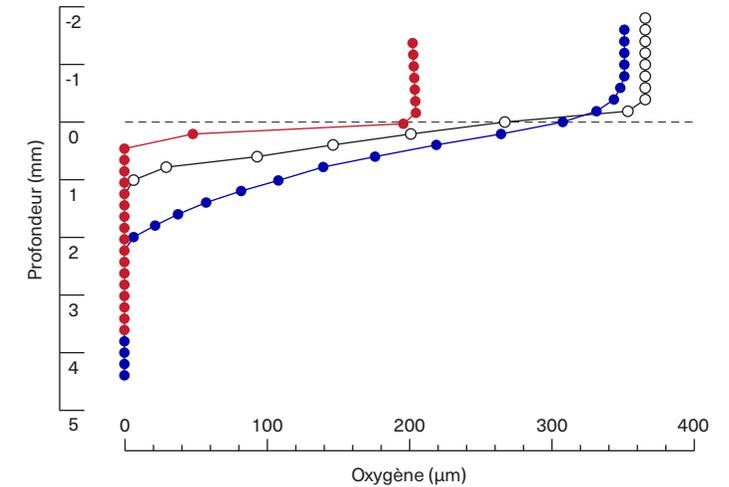
– en d'autres termes – l'activité biologique qui y est présente. Moins la pénétration de l'oxygène est profonde, plus l'activité est élevée.

Il apparaît toutefois clairement que la présence des sédiments en coussins peut avoir un énorme impact sur l'estimation des flux des éléments nutritifs à travers l'interface sédiment-eau, comme l'ont relevé différents groupes de recherche. La datation des sédiments ou le calcul des flux chimiques dus à la diffusion peuvent être largement biaisés [12, 13, 14] lorsque des structures en coussin sont présentes. Lors d'une campagne menée dans les années 1980, utilisant le petit submersible de recherche habité *F.-A. Forel* conçu et construit par l'océanographe et ingénieur suisse Jacques Piccard Encadré Chap. 5, de surprenantes et importantes différences entre les bosses et les fossés ont été observées Chap. 5. Ces différences au niveau des biomarqueurs dans l'eau interstitielle des sédiments concernaient notamment la formation microbienne de méthane. Par exemple, les flux de sulfate et de méthane dissous dans l'eau interstitielle étaient plus élevés d'un facteur de 2 à 3 dans les sédiments coussins [14] Fig. 7, Chap. 7.

Il est intéressant de noter qu'en examinant, au cours du projet *elemo*, les sédiments des coussins et des fossés à relativement faible profondeur (81 mètres) à proximité de la baie de Vidy, nous avons observé des caractéristiques très proches de celles trouvées 30 ans auparavant dans l'étude des sédiments coussins en eau profonde, à environ 260 mètres [14]. Les mesures de consommation d'oxygène par microcapteurs indiquent également que les sédiments au sommet des coussins

**Fig. 8** La consommation d'oxygène indique que les sédiments au sommet des coussins sont environ deux fois plus actifs que ceux des fossés. Le site nommé *Beggiatoa*, qui est le plus actif, est à proximité de la sortie de la STEP dans la baie de Vidy. La ligne pointillée représente la limite entre la colonne d'eau et le sédiment.

- Coussin (fossé)
- Coussin (haut)
- Site de *Beggiatoa*



sont environ deux fois plus actifs que ceux des fossés Fig. 8. Les sédiments des coussins et des fossés ne semblent pas être fondamentalement différents, mais ils présentent d'importants écarts concernant la vitesse de dégradation de la matière organique et celle d'autres processus biogéochimiques. Les raisons en restent floues, mais la suppression de particules fines et labiles de matière organique par des processus physiques, tels que les courants Chap. 5 ou la mise en suspension et la sédimentation répétées, pourrait être à l'origine de ces différences.

### Les sédiments les plus « actifs »

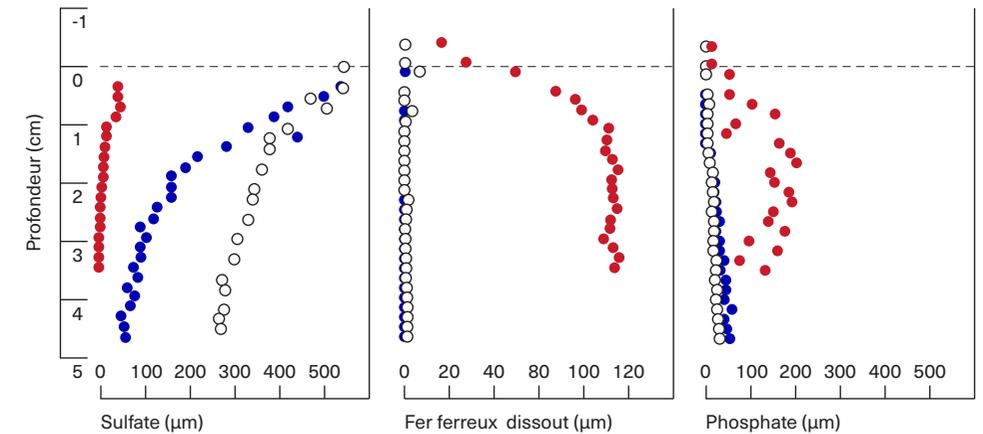
Alors que les sédiments coussins sont répandus sur la plaine profonde du Léman et se retrouvent également en bordure de la baie de Vidy Chap. 5, la surface des sédiments devient moins structurée et plus plate lorsque l'on se rapproche de la rive. C'est là que se trouvent les sédiments les plus « actifs » du Léman, influencés par les effluents des STEP incomplètement épurés. Les mesures réalisées lors du projet *elemo* ont montré que les sédiments à proximité de la sortie de la STEP (site *Beggiatoa*) sont les plus actifs Fig. 8 en raison de l'arrivée continue de matière organique et de nutriments par les effluents de la station d'épuration. Une intense production de méthane était déjà évidente, vu les grandes quantités de gaz émises quand les carottes sédimentaires ont été prélevées Fig. 9. De plus, ces sédiments sont enrichis en fer ( $Fe^{2+}$ ) – utilisé comme agent de déphosphoration à la STEP –, en phosphate et en traces de métaux lourds Chap. 8. Le fer ferreux dissous dans l'eau interstitielle est présent en concentrations beaucoup plus élevées dans les sédiments d'impact de la station d'épuration

**Fig. 9** De grandes quantités de gaz sont émises (les flèches noires indiquent les bulles de gaz) quand les carottes sédimentaires ont été prélevées dans la baie de Vidy.



qu'ailleurs Fig. 10. L'origine de ce fer est sans doute l'arrivée continue dans les sédiments d'oxydes de fer avec du phosphate absorbé, en provenance de la STEP. Une fois enfouis dans les sédiments, les oxydes de fer et le phosphate sont soumis à des conditions très fortement réductrices, dues à l'absence d'oxygène. Ceci a pour conséquence de faire passer le fer d'une forme solide à une forme soluble par la réduction du fer ferrique en fer ferreux. Les phosphates sont également relargués dans la colonne d'eau lorsque des conditions anoxiques prévalent dans les sédiments Fig. 10.

Au-dessous de 0.5 millimètre, il n'y a déjà plus d'oxygène dans le sédiment Fig. 8. En conséquence, les micro-organismes ont besoin d'autres sources d'énergie pour vivre. En plus de l'oxygène, le nitrate, les oxydes solides de fer et de manganèse, ainsi que le sulfate sont des composés chimiques utilisables pour la respiration des micro-organismes. Parmi ceux-ci, le sulfate est particulièrement important pour la respiration microbienne anaérobie dans ces sédiments, réalisée par des bactéries dites « sulfato-réductrices ». En comparant les profils de concentration de sulfate dans l'eau interstitielle des sédiments coussins et des fossés Fig. 7, nous observons que la concentration diminue plus rapidement dans les carottes sédimentaires des dessus de coussins que dans celles prises dans les fossés entre les coussins. Ceci est dû à la forte dégradation de la matière organique par des bactéries sulfato-réductrices sur le dessus des coussins. Encore une fois, ce sont les sédiments près de la sortie de la STEP, qui présentent la plus haute



**Fig. 10** Profils des concentrations de solutés dans l'eau interstitielle dans les sédiments dits coussins, à leur surface et dans les fossés, ainsi que sur le site *Beggiatoa* près de la station d'épuration dans la baie de Vidy.

- Coussin (fossé)
- Coussin (haut)
- Site de Beggiatoa

activité, compte tenu des faibles concentrations de sulfate mesurées dans l'eau interstitielle Fig. 10.

Bien que le sulfure issu de la respiration de sulfate soit toxique à des concentrations élevées pour la plupart des autres organismes vivants, il est la nourriture préférée d'un groupe de micro-organismes, les bactéries sulfo-oxydantes. Parmi celles-ci se trouvent les grandes représentantes filamenteuses *Beggiatoa* et *Thioploca* Fig. 11, qui peuvent former des voiles ou des tapis blanchâtres à la surface des sédiments dans lesquels le cycle du soufre est particulièrement intense. En

**Fig. 11** Photomicrographie basse résolution (échelle = 10 µm) du voile blanchâtre recouvrant la surface des sédiments tout près du tuyau de sortie de la station d'épuration (STEP), présentant de nombreuses bactéries de soufre filamenteuses qui se développent grâce à l'oxydation du sulfure (H<sub>2</sub>S) avec de l'oxygène moléculaire.



**Fig. 12** Tapis microbien observé proche de l'embouchure de la STEP et composés de bactéries sulfuroxydantes.



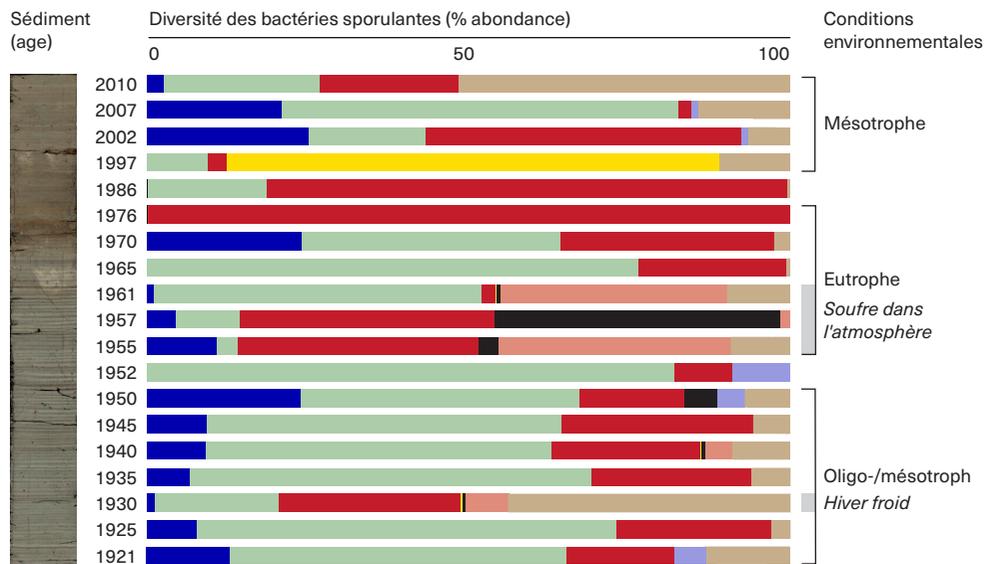
conséquence, signe de conditions très réductrices dans les sédiments et d'intense réduction bactérienne du sulfate, un voile blanchâtre de bactéries filamenteuses de soufre couvre parfois la surface des sédiments du Léman. Ces bactéries forment des associations que l'on appelle « tapis microbiens ». Ces tapis servent comme indicateurs de conditions sulfidogéniques. Dans le passé quand la concentration de nutriments était plus élevée, ces tapis microbiens se trouvaient fréquemment. De nos jours ils sont surtout restreints à l'exutoire des STEP Fig. 12.

### Au-delà des sédiments: l'histoire du Léman contée par les bactéries

Dans certaines zones, le sédiment se forme à une vitesse incroyable (par exemple plusieurs centimètres par an près de l'embouchure des rivières), alors que dans d'autres régions le processus est beaucoup plus lent Chap. 5. Cet aspect est très important car, en connaissant la vitesse de formation de nouveaux sédiments, nous pouvons faire une expérience visant à observer le passé en explorant les sédiments profonds. C'est d'ailleurs une des études qui a été réalisée dans le cadre du projet *elemo*. Une équipe composée de sédimentologues et de microbiologistes a travaillé pour étudier l'histoire « récente » du Léman. Des carottes sédimentaires ont été prélevées dans un canyon inactif du Rhône Chap. 4 puis analysées par les deux équipes. Il a été établi que ces carottes couvrent les quelque 100 dernières années de l'histoire du lac. Cette période correspond à l'activité humaine avant et après la Seconde Guerre mondiale, pendant laquelle l'activité industrielle s'est largement développée, entraînant une augmentation notable des éléments nutritifs dans les eaux du Léman.

Les analyses des micro-organismes « piégés » dans le sédiment ont été réalisées. Les restes d'organismes vivants – parmi lesquels des arêtes de poisson, du pollen d'arbres, des parois d'eucaryotes unicellulaires et parfois même des traces de leur matériel génétique – ont permis de retracer l'histoire d'un environnement dans le domaine appelé paléocéologie (ou paléolimnologie si l'on se réfère aux lacs). Toutefois les scientifiques travaillant dans le projet *elemo* ont décidé de développer une nouvelle approche en focalisant leur attention sur un groupe particulier de bactéries formant des endospores. Ce groupe est unique parce qu'il possède deux états vivants différenciés. Lorsque les conditions sont favorables, les bactéries restent dans un état « végétatif », dans lequel elles sont actives et se divisent en permanence. Cependant, si les conditions se dégradent, par exemple si les éléments nutritifs viennent à manquer ou si des éléments toxiques s'accumulent, les bactéries se protègent en s'entourant d'une structure résistante, l'« endospore ». Elles peuvent ainsi rester dans les sédiments pendant de très longues périodes qui durent parfois plusieurs centaines d'années. Ces endospores n'ont que peu ou pas d'activité métabolique, mais elles contiennent toute l'information nécessaire pour reconstruire une nouvelle cellule végétative. Cela se réalise par un processus de « germination », assez analogue à ce qui se produit avec les graines des plantes.

Ces deux structures – les cellules végétatives et les endospores – ont été étudiées dans les sédiments du Léman. A cet effet, leur matériel génétique a été extrait et analysé afin de définir les groupes les plus communs présents dans les sédiments et pour établir les variations de leur fréquence au cours du temps. Ces deux types d'information ont été combinés afin de retracer l'histoire du Léman. Il était particulièrement intéressant d'utiliser des bactéries formant des endospores parce que nous savons que des groupes spécifiques ne peuvent prospérer que dans des conditions environnementales spécifiques. Par exemple, certains groupes ont besoin d'oxygène pour survivre (*métabolisme aérobie*) alors que d'autres ne tolèrent pas du tout sa présence (*métabolisme anaérobie*). Cette information permet de savoir si la teneur en oxygène des sédiments du Léman est devenue très faible ou très élevée à certaines périodes pendant les cent dernières années. Cette information peut également être obtenue en étudiant la composition chimique du sédiment. Travailler avec deux approches expérimentales permet à l'une de confirmer l'autre, et ainsi d'obtenir un très bon niveau de fiabilité des données.



- Bacillus
- Paenibacillus
- Clostridium
- Brevibacillus
- Desulfotomaculum
- Moorella
- Sporomusa
- Autres

**Fig. 13** Les découvertes faites grâce aux carottes sédimentaires du Léman ont permis d'étudier le passé et de révéler une corrélation élevée entre la période d'eutrophisation (dépourvue d'oxygène) et la diversité de bactéries sporulantes.

Les découvertes faites grâce aux carottes sédimentaires du Léman sont assez remarquables Fig. 13. Il a été possible de vérifier à quelle période le Léman est devenu *eutrophe*<sup>[15]</sup>, ce qui a été signalé par la dominance des *groupes anaérobies*, comme les *Clostridium*. Ces bactéries sont mieux connues des humains à cause de maladies graves comme le botulisme (*Clostridium botulinum*) ou le tétanos (*C. tetani*), ou encore par l'altération des aliments provoquée par d'autres espèces. Cependant, la majorité des Clostridia sont en réalité inoffensives et jouent un rôle dans le recyclage de la matière organique dans l'environnement, en permettant sa fermentation en des acides organiques simples et en CO<sub>2</sub>. Ce type de bactéries était particulièrement abondant dans le Léman dans les années 1980 à 1990 lorsque le niveau d'éléments nutritifs était élevé et que l'oxygène était rapidement consommé dans la colonne d'eau.

#### Eutrophisation

Le processus par lequel des nutriments s'accumulent dans un milieu.

#### Bactéries anaérobies

Bactérie ne pouvant pas utiliser l'oxygène lors d'une respiration et dont la croissance peut être inhibée par l'oxygène.

Une autre corrélation importante a été mise en évidence entre l'abondance de bactéries formant des endospores et utilisant des sulfates pour respirer (bactéries sulfato-réductrices), avec l'utilisation accrue de combustibles fossiles après la Seconde Guerre mondiale. Des bactéries sulfato-réductrices telles que *Desulfotomaculum*, étaient particulièrement prédominantes entre 1954 et 1961 Fig. 12. Cette période coïncide avec une augmentation du taux de soufre dans les sédiments et ces micro-organismes ont pu profiter de l'abaissement.

D'autres événements que ceux provoqués par les humains ont pu être retracés grâce à l'étude des micro-organismes. En 1929, un hiver extrêmement froid a frappé l'Europe. De nombreux lacs ont gelé, y compris une partie du Léman. Cet événement climatique a également laissé des traces dans le sédiment. L'apparition subite de *Sporomusa*, un genre qui ne peut vivre qu'en produisant de l'acétate à partir de CO<sub>2</sub> et d'hydrogène (acetogénèse), a été une découverte surprenante. En effet, dans la plupart des lacs des zones tempérées, l'acetogénèse est remplacée par d'autres processus utilisant le CO<sub>2</sub> et l'hydrogène, notamment la méthanogénèse Chap. 5. Celle-ci est plutôt prépondérante sous des latitudes proches des pôles, où règnent des conditions extrêmement froides. Les traces de *Sporomusa* témoignent donc des conditions particulièrement rudes de l'hiver 1929-1930 Fig. 13.

L'étude combinée des sédiments du Léman en utilisant la sédimentologie, la chimie et la microbiologie offre une étude de cas sur laquelle des recherches paléolimnologiques ultérieures pourront s'appuyer.

### Du microscope à la société: Le voyage d'une bactérie, de l'Homme jusqu'aux profondeurs du Léman

Les êtres humains laissent leur signature, très personnelle, dans les eaux usées. Nous sommes en effet de grands bioréacteurs ambulants: nous consommons de la matière organique qui entre dans notre système digestif, où nos enzymes ainsi que de nombreux micro-organismes, la dégradent et la transforment en énergie. En réalité la plupart des cellules que nous portons sont microbiennes – le bon fonctionnement de notre organisme, et donc aussi notre santé, dépend pour bien des aspects de ces hôtes invisibles dont l'ensemble constitue le microbiome humain, notion très en vogue actuellement dans le milieu scientifique.

#### La STEP et les métaux toxiques

Des contaminants de plusieurs sortes polluent l'eau à différentes étapes. Les usages domestiques de l'eau (à la salle de bains, à la cuisine, aux toilettes, etc.) sont une des sources de pollution les plus fréquentes. Ces eaux usées sont collectées et amenées aux stations d'épuration (STEP) afin d'être

nettoyées puis réintroduites dans les cours d'eau naturels. Ce schéma général peut aisément être appliqué aux « ménages » autour du Léman et plus particulièrement au système d'égouts et de traitement des eaux de la ville de Lausanne. Dans le cas du Léman, où l'eau est traitée à la STEP de Vidy, la mise en

œuvre de cette procédure de traitement, et notamment l'introduction d'un procédé de précipitation des phosphates, a été la clé du rétablissement écologique du lac alors que les éléments nutritifs avaient atteint des niveaux alarmants au début des années 1980 provoquant l'eutrophisation du lac.

De nos jours, les éléments nutritifs en excès ne sont pas les seuls polluants. De nombreuses substances sont actuellement identifiées comme étant déterminantes pour la qualité de l'eau, parmi lesquelles les métaux toxiques. Leur persistance dans l'environnement est le principal problème posé par ces métaux. Contrairement aux *polluants organiques*, les métaux ne peuvent pas être « digérés » par les micro-organismes, ce qui implique qu'ils ont tendance à s'accumuler tout au long des *chaînes trophiques*. Un bon exemple est le mercure, qui s'est initialement accumulé dans les sédiments mais qui parvient tout de même jusqu'à nous via la chaîne alimentaire <sup>Chap. 8</sup>.

Les STEP peuvent être considérées comme de grands carrefours où l'eau, les polluants et les microbes se rencontrent et se concentrent. Il n'est dès lors pas surprenant qu'avec un tel mélange et de telles concentrations, même les installations les plus performantes (qui sélectionnent en fait certaines substances ou organismes) laissent s'échapper quelques substances

Dans le cas de l'agglomération Lausannoise, une des principales sources de métaux suspectée serait l'apport des eaux de ruissellement de surface dont une partie est encore acheminée à la station d'épuration. Comme c'est le cas dans beaucoup de villes de par le monde, le système d'égout de la ville de Lausanne n'est en effet pas encore entièrement séparatif, même si de gros travaux de génie civil sont effectués dans ce sens. Lors d'intempéries, les eaux de ruissellement collectent les particules fines, riches en métaux, émises par l'activité humaine. Ces métaux proviennent notamment de l'abrasion des surfaces bâties ainsi que du trafic motorisé. Une fois à la station d'épuration, ils sont en principe retenus dans les boues activées, qui sont éliminées par incinération et confinement des cendres. Une partie de ces polluants échappe cependant manifestement à ce traitement, puisque l'on retrouve des métaux dans les sédiments.

#### Colloïde

Suspension d'une ou plusieurs substances, dispersées régulièrement dans une autre substance, formant un système à deux phases.

qui peuvent ensuite se retrouver dans les sédiments à proximité de l'exutoire. Un des axes de recherche du projet *elemo* concernait l'étude des contaminants métalliques relâchés par la STEP <sup>Encadré</sup> et leurs effets sur les bactéries qui vivent dans les sédiments de la baie de Vidy.

Cette étude a permis de faire plusieurs observations surprenantes. Contrairement à ce qui avait été observé au préalable pendant les suivis utilisant des engins de surface, les plus hautes teneurs en métaux, mesurées dans les sédiments ne se situent pas à proximité immédiate de la sortie des eaux de la STEP. Ceci indique que d'autres processus comme les courants <sup>Chap. 5</sup> ou le transport de *colloïdes* doivent être considérés pour expliquer la distribution des polluants résiduels dans les effluents <sup>Chap. 8</sup>. En outre, le rôle du soufre et des bactéries capables de transformer les composés soufrés doivent également être revus, comme le suggèrent les formations microbiennes (biofilms) observées à la surface des sédiments les plus contaminés.

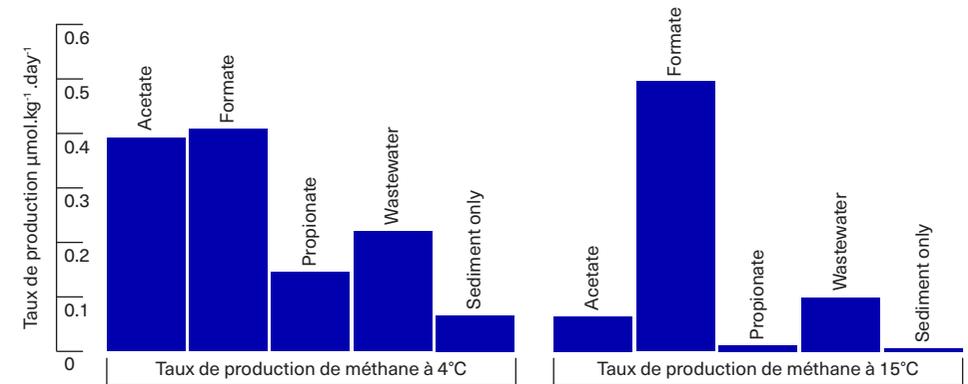
L'étude des communautés microbiennes présentes dans les sédiments a permis de confirmer l'influence de la STEP ainsi que des rejets de métaux qui y sont associés <sup>[16]</sup>. Il s'est avéré que les bactéries formant des endospores, mais aussi les endospores elles-mêmes, peuvent être utilisées comme traceurs biologiques de pollution par des métaux lourds. Il est intéressant de noter que ce type de bactéries, trouvé dans les sédiments pollués, n'est pas autochtone mais issu de nos intestins. Cela signifie que ces marqueurs biologiques ont entrepris un voyage incroyable entre nous et l'environnement, rencontrant en chemin d'autres bactéries ainsi que des métaux toxiques. Pour ces bactéries, l'avantage présenté par la formation d'endospores résistantes leur permet d'échapper au destin tragique suivi par toutes les autres bactéries à la STEP: la mort! Au lieu de disparaître, ces bactéries survivent et prédominent dans les zones contaminées <sup>Fig. 12</sup>.

#### Production microbienne de méthane

En Europe de l'Ouest, les eaux usées domestiques sont simplement traitées en stimulant l'activité microbienne par l'oxygénation du substrat. Cette approche est gourmande en énergie, coûteuse pour le consommateur et produit des émissions massives de CO<sub>2</sub> dans l'environnement. Une alternative serait de remplacer cette technique vieille d'un siècle par une technologie anaérobie plus durable et efficace au niveau énergétique. Cette méthode aboutit à la production de méthane, qui est une source d'énergie utile. En réalité, l'idée est de transformer le traitement des eaux usées pour que le processus actuellement

consommateur d'énergie devienne producteur d'énergie. Dans les pays tropicaux, particulièrement en Amérique du Sud, le traitement anaérobie des eaux usées a déjà été implanté avec succès. Les pays au climat tempéré (Amérique du Nord, Europe de l'Ouest et une grande partie de la Chine) sont nettement en retard. La température est en fait le facteur problématique. Les technologies de traitement des eaux usées aérobies et anaérobies sont toutes deux basées sur l'activité des micro-organismes. Les micro-organismes aérobies n'ont pas de difficulté à fonctionner à de basses températures, contrairement à ceux anaérobies, plus exigeants. L'adaptation de ces micro-organismes provenant de systèmes d'épuration industriels opérant à 30°C aux températures des eaux suisses (4 à 8°C en hiver) n'a pas eu beaucoup de succès jusqu'à présent. Pour surmonter cette difficulté nous avons proposé une approche radicalement différente: prendre des micro-organismes de l'Arctique et d'autres emplacements froids en permanence, comme les sédiments du Léman, afin de tester leur capacité à traiter les eaux usées à des températures aussi basses que 4 et 8°C. Les sous-marins *MIR* utilisés au cours du projet *elemo* ont ainsi permis de prélever des carottes de sédiment afin d'étudier les archées méthanogènes, qui vont être à l'origine de la production de méthane (Chap. 7; Fig. 7 et 9). Les communautés impliquées ont été étudiées par l'intermédiaire de gènes qui participent à la production de méthane. En suite, d'autres expériences ont pu être menées sur les sédiments du Léman pour comprendre, par exemple, comment la température pouvait être mise en relation avec ces activités microbiennes.

Le traitement anaérobie des eaux usées se base sur un processus biologique séquentiel, très semblable à la chaîne alimentaire, dans lequel différents micro-organismes interdépendants (bactéries et archées) sont nécessaires pour convertir les déchets en méthane. Lors d'un examen précédent au laboratoire, les sédiments du Léman sont sortis du lot grâce à leur excellente activité méthanogène à partir d'hydrogène et de CO<sub>2</sub>, les substrats classiques pour la méthanogénèse. Par contre, avec une véritable eau usée domestique, l'activité méthanogène était quasiment nulle. Notre hypothèse est que les conditions quasiment inaltérées sur le lieu de prise d'échantillons, où les microbes n'avaient que de rares contacts avec les eaux usées anthropiques, peuvent expliquer cette faible activité. Aussi avons-nous, dans le cadre du projet *elemo*, récolté de nouveaux échantillons sédimentaires du Léman dans la baie de Vidy, près de la sortie des eaux traitées par la STEP de Lausanne. Les résultats obtenus sont très prometteurs :



**Fig. 14** Taux de production de méthane des micro-organismes ensemencés avec les sédiments du Léman de la baie de Vidy modifiés par différents substrats.

les petits réacteurs ensemencés avec ce sédiment présentent une activité méthanogène nette lorsqu'ils sont alimentés par de l'eau usée, à 4°C comme à 15°C (Fig. 14). La prochaine étape est en cours de réalisation: soit le démarrage d'un réacteur plus grand afin de traiter des eaux usées à température ambiante. Les sédiments de la baie de Vidy serviront à son ensemencement.

- [1] Lang C., Monod R., Pongratz E., Revaclier R., Vernet J.P., Wattenhofer R. (1984), Historique des principales études sur le Léman. In CIPEL, Commission internationale pour la protection des eaux du Léman contre la pollution (éd.), *Le Léman – Synthèse 1957 – 1982*, Lausanne, pp. 13-26.
- [2] Fol H., Dunant P.L. (1884), Recherches sur le nombre de germes vivants que renferment quelques eaux de Genève et des environs, *Mémoires de la Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève* 29(3), pp. 1-15.
- [3] Fol H. (1884), Nouvelle méthode pour le transvasage de bouillons stérilisés et le dosage des germes vivants contenus dans l'eau, *Archives des Sciences Physiques et Naturelles de Genève*, 11, p. 557.
- [4] Seiler F. (1896), *Rapports sur les analyses bactériologiques et chimiques de l'eau du lac Léman et des eaux de quelques sources du Pays d'Enhaut*, Imprimerie Vallotton, Lausanne.
- [5] Forel F.A. (1904), *Le Léman*, F. Rouge, Lausanne, Vol. 2, p. 642 et Vol. 3, p. 360.
- [6] Lavanchy C.L. (1914), *Contribution à l'étude de la flore bactérienne du lac de Genève*, Dissertation, Université de Genève, Imprimerie Kündig, Genève.
- [7] Marca A.A. (1927), Contributions à l'étude de la flore bactérienne du lac de Genève, *Bulletin de la Société Botanique de Genève*, 19, pp. 259-272.
- Grouitch V. (1920), Contributions à l'étude de la flore bactérienne du lac de Genève, *Bulletin de la Société Botanique de Genève*, 12, pp. 246-273.
- [8] Druart J.C., Balvay G. (2007), *Le Léman et sa vie microscopique*, Editions Quae, 180 p. (Switzerland-France), *Aquatic Sciences*, 76, pp. 103-116.
- [9] Taib N., Mangot J-F., Domaizon I., Bronner G., Debroas D. (2013), Phylogenetic affiliation of SSU rRNA genes generated by massively parallel sequencing: New insights into the freshwater protist diversity, *PLoS ONE*, 8(3): e58950. doi: 10.1371/journal.pone.0058950
- [10] Brandl H. (1987), Mikrobielle Prozesse unter oxidationsmittel-limitierten Bedingungen an der Sediment-Wasser-Übergangszone in Seen. Dissertation Universität Zürich, ADAG, Zürich.
- [11] Sturm M., Zwysig A., Piccard J. (1984), Bio-erosive humpback-structures on the lake floor – an example of sediment/water interface alteration in Lake Geneva, Abstracts of the 5<sup>th</sup> International Symposium on Interactions between Sediments and Water, Geneva, p. 126.
- [12] Dominik J., Loizeau J.L., Gallerini B., Piccard J., Monod R., Vernet J.P. (1989), Use of radionuclides in interpreting sedimentary records: an application to the pollution history from the sediments with «pillow-hollow» bottom morphology in Lake Geneva, in Vernet J.P. (éd), 7<sup>th</sup> International Conference on Heavy Metals in the Environment, Geneva, Vol 1, CEP Consultants, pp. 461-466.
- [13] Brandl H., Hanselmann K.W., Bachofen R., Piccard J. (1993), Small-scale patchiness in the chemistry and microbiology of sediments in Lake Geneva, Switzerland, *Journal of General Microbiology*, 139, pp. 2271-2275.
- [14] Wunderlin T., Corella J.P., Junier T., Bueche M., Loizeau J.L., Giradclos S. et P. Junier (2014), Endospore-forming bacteria as new proxies to assess impact of eutrophication in Lake Geneva,
- [15] Sauvain L., Bueche M., Junier T., Masson M., Wunderlin T., Kohler-Milleret R., Gascon-Diez E., Loizeau J.L., Tercier-Waerber M.L. et P. Junier (2014), Bacterial communities in trace metal contaminated lake sediments are dominated by endospore-forming bacteria, *Aquatic Sciences*, pp. 33-46.

