



Diversité microbienne en milieu aquatique urbain

Françoise Lucas

► **To cite this version:**

Françoise Lucas. Diversité microbienne en milieu aquatique urbain. Sciences de l'environnement. Université Paris-Est, 2011. <tel-00676527>

HAL Id: tel-00676527

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00676527>

Submitted on 5 Mar 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Mémoire présenté pour l'obtention
du diplôme d'habilitation à diriger les recherches**

Université Paris-Est

2011

Par Françoise Lucas

Directeur de recherche : Pr. Régis Moilleron

**DIVERSITE MICROBIENNE EN MILIEU
AQUATIQUE URBAIN**



SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	5
ACTIVITES DE RECHERCHE	8
INTRODUCTION	9
DIVERSITE MICROBIENNE DANS LES CYCLES BIOGEOCHIMIQUES	11
I. REDUCTION DES METALLOÏDES EN MILIEU AQUATIQUE	11
II. OXYDATION DU METHANE DANS UN LAC URBAIN	15
III. BILAN	17
I. INTERACTIONS OISEAUX-BACTERIES.....	19
I.1 Facteurs génétiques vs environnementaux	20
I.2 Les bactéries indicatrices de la qualité phénotypique.....	21
II. CASCADES TROPHIQUES EN MILIEU LACUSTRE	25
III. BILAN ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE	28
DIVERSITE MICROBIENNE ET GESTION DES EAUX URBAINES	31
IV. EFFICACITE DES SEPARATEURS A GRAISSE BIOLOGIQUES	34
IV.1 Composition des communautés microbiennes d'un SAG	35
IV.2 Liens entre diversité et fonction en conditions stressantes	37
IV.3 Développement d'une méthode d'assemblage.....	40
V. BILAN ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE	43
VI. QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES EAUX URBAINES.....	44
VI.1 Sources de mycobactéries dans les bassins versants	45
VI.2 Abattement des microorganismes par les traitements primaires et secondaires	48
VII. BILAN ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE	53
I. FINANCEMENTS ET COLLABORATIONS ENTRE 1993 ET 2005.....	56
II. FINANCEMENTS ET COLLABORATIONS DEPUIS 2005	57
CONCLUSION	59
NOTICE	61
CURRICULUM VITAE	62
I. REVUES INTERNATIONALES A COMITE DE LECTURE.....	64
II. LIVRES, REVUES SANS COMITE DE LECTURE ET PROCEEDINGS	65
III. COMMUNICATIONS NATIONALES ET INTERNATIONALES (PREMIER AUTEUR).....	65
IV. SEMINAIRES, PRESENTATIONS.....	66
ENCRADREMENT SCIENTIFIQUE.....	67
I. DOCTORANTS.....	67
II. POSTDOCTORANTS ET ATER	68
III. ENCADREMENT D'ETUDIANTS	68
ANIMATION ET RESPONSABILITES SCIENTIFIQUES	70
I. MEMBRE DE COMITES SCIENTIFIQUES.....	70
II. ARBITRE DE JOURNAUX SCIENTIFIQUES ET DE FONDATIONS DE RECHERCHE	70
III. MEMBRE DE SOCIETES SCIENTIFIQUES:	70
IV. ANIMATION SCIENTIFIQUE.....	71
ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT.....	72
I. ENSEIGNEMENTS DISPENSES ENTRE 1993 ET 2005	72
II. ENSEIGNEMENTS DISPENSES DEPUIS 2005	73
III. RESPONSABILITES	74
GLOSSAIRE	75

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Frank and Ernest (Bob et Tom Thaves, 2003-04-01, dist. NEA Inc.)	9
Figure 2. Lac Mono (Ca, USA): formations cristallines liées à la forte évaporation (photo de J.T. Hollibaugh).....	12
Figure 3. A. Evolution au cours du temps de la concentration en séléniate dissous (μM) dans les microcosmes composés de sédiments prélevés à 10 km (AL10) et 20 km (AL20) de l'estuaire de la rivière Altamaha (GA, USA). Les bandes séquencées sont indiquées par les numéros 1 à 6. C : traitement sans ajout de séléniate, S : traitement avec ajouts de séléniate.....	13
Figure 4. Profils des paramètres chimiques et microbiologiques le long de la colonne d'eau du lac Rotsee. A. oxygène (triangles pleins), sulfate (losanges ouverts), méthane (losanges pleins). B. Taux d'oxydation du méthane et proportion de MOB.....	16
Figure 5. Différence de richesse taxonomique (nombre de phylotypes) entre les jeunes pies (n=41) et les jeunes coucou-geais (25).....	21
Figure 6. Effet de la manipulation de taille de nichée sur les densités de bactéries libres par plume, pour les nichées initialement à 4 et 5 jeunes. Les barres pleines représentent les nichées augmentées, les barres ouvertes les nichées réduites. Les deux étoiles indiquent une différence significative (Anova, $F_{1,21} = 11.91$, $p < 0.01$).....	23
Figure 7: Diversité microbienne dans les échantillons collectés le lundi et le vendredi .1: <i>Acetobacter</i> sp., 2: <i>Gulbenkiania</i> sp., 3: <i>Petrobacter</i> sp., 4: <i>Aeromonas</i> sp., 5: <i>Escherichia</i> sp., 6: <i>Desulfovibrio</i> sp., 7: <i>Bacteroides</i> sp., 8: <i>Prevotella</i> sp., 9: <i>Lactobacillus</i> sp., 10: <i>Clostridium</i> sp., 11: <i>Dialister</i> sp., 12: <i>Megasphaera</i> sp., 13: <i>Selenomonas</i> sp., 14: <i>Veillonella</i> sp.....	36
Figure 8. Relation entre le nombre de taxons et la densité bactérienne à 7 jours (absorbance à 450 nm) en présence d'un mélange d'huiles de table et en fonction du type de perturbation appliqué (ajout de 1 % détergent de restauration collective, chocs thermiques d'1 h à 44°C tous les jours, combinaison des deux perturbations). Les conditions non perturbées correspondent à une incubation à 25°C	39
Figure 9. Relation entre la diversité taxonomique et le coefficient de variation temporel de la mesure de densités bactériennes (A, absorbance à 450 nm), et d'activités lipases (B, unités de fluorescence) pendant 12 jours d'incubation en conditions fluctuantes de température et de concentration en détergent	40
Figure 10. Comparaison des biomasses bactériennes (n=3) le long d'un gradient de phosphore entre une souche pure (A) et une communauté bactérienne naturelle (B). Les éléments limitants la croissance bactérienne estimés par modélisation sont indiqués sur le graphe	42
Figure 11. Pourcentage d'abattement des cellules totales (comptage en épifluorescence) et des indicateurs de contamination fécale (<i>Escherichia coli</i> et entérocoques intestinaux) par le décanteur accéléré et les biofiltres de la station Seine Centre en temps sec (n=12).	50
Figure 12. Profils d'HPLC du gène de l'ARNr 16S des communautés bactériennes dans les eaux prétraitées (A) et les eaux décantées (B) de la STEP Seine-Centre. Abscisses : temps de rétention (min), ordonnées : unités de fluorescence (marquage au Syber Green)	51
Figure 13. Laboratoire de biologie moléculaire du Leesu	55

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Prévalence de salmonelle, de Campylobacter ou de Escherichia coli entéropathogène dans les échantillons cloaquaux des jeunes pies et coucou-geais (en %)	22
Tableau 2. Impact des gardons sur les abondances bactériennes (cellules par ml), les activités spécifiques beta-glucosidase et amino-peptidase (fmol/cell/h), et richesse dans l'eau, les sédiments et les biofilms (n=8). La richesse est le nombre de pics dans les profils dHPLC d'ARNr 16S.....	27
Tableau 3 Comparaison des limites de quantification, de la sensibilité et la spécificité des 3 techniques de qPCR (n=9). Les quantités d'ADN sont exprimées en nombre d'équivalents génomes de <i>M. chelonae</i> (GE). Méthode A, développée par nous-même à partir des amorces 110F/I571R et de la sonde H19R. Méthode B développée par Dutil et al. (1) et méthode C développée par Tobler et al. (2),	48
Tableau 4. Concentrations en microorganismes dans les eaux prétraitées et rejetées de la station d'épuration Seine-Centre (Colombes) en temps sec (n=12). Les cellules totales ont été comptées en épifluorescence après coloration au DAPI, le nombre de copies de génomes de MNT a été évalué par PCR temps réel.....	50
Tableau 5. Encadrement de travaux pratiques dispensés à l'université Rennes I comme vacataire d'enseignement. Les volumes horaires sont exprimés en heures Travaux Dirigés	72
Tableau 6 : Répartition des enseignements par formation et matière depuis 2005. Les enseignements que j'ai créés sont indiqués en gras	73

INTRODUCTION GENERALE

Depuis quelques années la quantité d'articles publiés concernant le lien entre la diversité et le fonctionnement des écosystèmes est en expansion rapide (1). En effet, de nombreuses études ont montré que les modifications de la biodiversité pouvaient affecter le fonctionnement global des écosystèmes aquatiques et terrestres (2). Cet engouement tient à la fois à des raisons purement théoriques de compréhension du fonctionnement des écosystèmes, mais également à des raisons sociétales liées aux services que peuvent rendre les écosystèmes à la civilisation humaine. Ces services écosystémiques (e.g. recyclage de la matière organique et des nutriments, ressources biologiques et minérales, fertilité des sols, qualité de l'eau et de l'atmosphère) représentent une valeur économique, éthique et esthétique (3, 4), dont la récente prise de conscience a contribué à la stimulation des recherches en écologie. Comprendre et prédire les conséquences d'une perte de diversité sur le fonctionnement des écosystèmes représente donc un enjeu majeur pour le maintien et le développement des sociétés humaines.

La plupart des recherches sur la biodiversité se sont focalisées sur les grands organismes et en particulier sur les producteurs primaires (5). Les microorganismes ont reçu moins d'attention bien que les processus microbiens aient joué un rôle primordial dans la co-évolution de notre géosphère et de notre biosphère. Ces mêmes interactions microbe-environnement opèrent encore de nos jours, et notre société en dépend pour assurer qualité de l'eau, nourriture et santé (6). Comprendre quels sont les facteurs qui gouvernent la distribution et la dynamique des espèces bactériennes, quel est le rôle que joue la diversité bactérienne dans le maintien et l'amplitude des fonctions de l'écosystème est crucial. Cependant dans les années 1990, il a été estimé que moins de 1% de la diversité des bactéries avait été décrite (7, 8). Cette constatation est toujours d'actualité, malgré le fait que nombre de chercheurs en écologie microbienne se sont focalisés sur l'inventaire de la diversité microbienne à l'aide des méthodes moléculaires. En écologie microbienne, ces aspects méthodologiques sont devenus prédominants alors que la discipline manque cruellement d'approches théoriques (6). Depuis quelques années les théories écologiques développées pour les macroorganismes tendent à être étendues au monde microbien. Ce type de démarche soulève quelques problèmes liés à la nature des bactéries et archées. Toutefois la valeur des modèles bactériens pour tester les théories écologiques a été récemment soulignée (9,10). Malgré certaines différences, les microorganismes et les macroorganismes ont beaucoup d'aspects fondamentaux en commun, et les théories développées en écologie végétale et animale pourraient servir de cadre pour mieux comprendre la dynamique et le rôle de la diversité microbienne (6).

Comme le soulignent Horner-Devine et Bohannan (11), il existe encore une barrière de communication entre les disciplines et les individus bilingues en microbiologie et en écologie

¹ Petchey O.L., Morin P.J., Hulot F.D. et al. (2002). In: Biodiversity and ecosystem functioning: synthesis and perspectives. Loreau M., Naeem S., Inchausti P. (eds.), Oxford University Press, New York, pp. 127-138

² Kinzig A.P., Pacala S.W., and Tilman, D. (2002). The Functional Consequences of Biodiversity: Empirical Progress and Theoretical Extensions. Princeton University Press, Princeton, NJ.

³ Ehrlich P.R., Ehrlich A.H., and Daily G.C. (1992). Population, ecosystem services, and the human food supply. Morrison Institute for Population and Resource Studies Working Paper No. 44., Stanford University, Stanford, CA.

⁴ Daily G.C. (1997). Nature's Services: Societal Dependence on Natural Ecosystems. Island Press, Washington. 392 pp.

⁵ Duffy J.E. (2002). *Oikos* 99: 201-219

⁶ Allison S.D., and Martiny, J.B.H. (2008). *PNAS* 105 (Suppl. 1):11512-11519

⁷ Torsvik V., Goksøyr J., and Daae F.L. (1990). *Appl Environ Microbiol.* 56: 782-787

⁸ Amann R.I., Ludwig W., and Schleifer K.H. (1995). *Microbiol Rev.* 59:143-169

⁹ Jessup C.M., Kassen R., Forde S.E., et al. (2004). *Trends Ecol Evol.* 19:189-197.

¹⁰ Prosser J.I., Bohannan B.J.M., Curtis T.P. et al. (2007). *Nat Rev Microbiol.* 5: 384-392

¹¹ Horner-Devine M.C., and Bohannan. B.J.M. (2006). *Trends in Ecology and Evolutionary Biology* 21: 473.

générale sont rares. Or l'étude des écosystèmes ne peut se faire sans la connaissance et la compréhension des microorganismes catalysant la plupart des réactions redox dans les écosystèmes. De même les eucaryotes co-existent avec une multitude de microorganismes et, de ce fait, le rôle des pathogènes et microorganismes symbiotiques comme force évolutive ne peut plus être ignoré. Les approches interdisciplinaires impliquant la collaboration des microbiologistes avec des chimistes, des mathématiciens, des évolutionnistes, des écologues, et des sociologues sont devenues nécessaires en écologie microbienne pour créer de nouveaux outils, poser les bonnes questions et conceptualiser les expériences.

Au cours de ma carrière scientifique, j'ai ainsi acquis la capacité à transposer et adapter des techniques et concepts d'une discipline à l'autre, d'un habitat à un autre et d'un modèle biologique à un autre. Mes activités de recherche en thèse et lors de mes postdoctorats m'ont permis de toucher à différentes approches expérimentales et théoriques de l'écologie en me confrontant à des chercheurs d'autres disciplines telle que la zoologie, la géochimie, l'écologie comportementale et l'écologie évolutive. Ce parcours était en somme une bonne préparation à l'intégration d'une UMR aussi interdisciplinaire que le Leesu (Laboratoire Eau, Environnement et Systèmes Urbains, UMR 102 MA, Université Paris-Est Créteil) où un même objet, l'eau en milieu urbain, est étudié avec différentes approches : chimie de l'environnement, hydrologie, sociologie, génie urbain et microbiologie. Cette capacité d'adaptation m'a permis d'apporter et d'intégrer mes connaissances et compétences scientifiques aux recherches menées par le Leesu et ainsi de renforcer l'approche microbiologique de cet objet d'étude. Mon choix de la multidisciplinarité s'est opéré naturellement, du fait de la position de l'écologie microbienne à la croisée entre la microbiologie, l'écologie et la biogéochimie. Cette interdisciplinarité permet un enrichissement mutuel par l'apport réciproque de connaissances malgré les différences de concepts et vocabulaire.

Ce document, destiné à l'obtention du diplôme d'Habilitation à Diriger des Recherches, synthétise mes activités scientifiques depuis mon premier post-doctorat au département des sciences marines de l'Université de Georgie (Athens, USA) jusqu'à mon recrutement en tant que Maître de Conférences de l'Université Paris-Est Créteil dans le laboratoire Leesu. Ce laboratoire fait partie du nouvel OSU Efluve et est rattaché au PRES Paris-Est et à l'école Agro-ParisTech-ENGREF. Les recherches du Leesu se focalisent sur plusieurs approches de la gestion de l'eau et de l'environnement en milieu urbain dans un contexte de développement durable. Le cycle de l'eau est abordé avec une approche intégrée (chimie, hydrologie et microbiologie), et la gestion de la ville et de l'eau est étudiée par des approches structurelles (conception et maintenance des infrastructures et des systèmes linéaires urbains), et non-structurelles (processus décisionnels entre les usagers et les acteurs techniques et politiques).

Ma recherche au Leesu s'inscrit à la fois dans l'approche intégrée du cycle de l'eau en milieu urbain et dans les approches structurelles de la gestion de l'eau. Au sein de ces thématiques je cherche à intégrer des concepts d'écologie fonctionnelle à l'étude et la gestion de l'eau en milieu urbain. Par exemple de nombreux systèmes de gestion des eaux pluviales ou des eaux usées tels que les séparateurs à graisse biologiques, les biofiltres, les boues activées ou les jardins filtrants, instrumentalisent plusieurs processus écologiques sans que ceux-ci soit clairement compris et identifiés. Ouvrir ces boîtes noires en étudiant les processus écologiques impliqués pourrait permettre d'optimiser ces systèmes pour développer une meilleure résilience aux fluctuations et perturbations ambiantes. En retour ces systèmes urbains offrent des modèles originaux et stimulants pour tester les théories écologiques. Ainsi mes travaux de recherche au Leesu s'inscrivent-ils dans une approche qui vise à comprendre le rôle positif que pourrait exercer la diversité bactérienne dans la gestion de l'eau en milieu urbain en assurant la stabilité et l'amplitude des services liés à la dépollution et au contrôle des pathogènes. Ceci suppose d'une part de mesurer l'impact des systèmes de gestion de l'eau sur la densité et la diversité des pathogènes et d'autre part de

comprendre quel est le rôle de la diversité bactérienne dans le maintien du recyclage de la matière organique et comme barrière aux invasions par les pathogènes en présence de perturbations multiples. Mes recherches actuelles portent sur la qualité microbienne des eaux usées et des eaux de pluie collectée par les particuliers. Je m'intéresse également à l'impact des modifications de structure du réseau trophique sur la diversité et l'activité hétérotrophique microbienne, et à l'impact des perturbations physico-chimiques (chocs thermiques, détergents, biocides) seuls ou combinées sur le rôle d'assurance de la diversité bactérienne. Mes projets de recherches à court et moyen terme porteront sur l'effet des perturbations multiples sur la diversité bactérienne au sein des réseaux trophiques. Ainsi le projet ANR Pulse qui vient de démarrer vise à étudier l'effet des changements globaux et des forçages anthropiques (modification des bassins versants et changements climatiques) sur la qualité sanitaire et écologique des lacs urbains d'Ile de France, et prenant en compte la diversité de différents compartiments du réseau trophique. A moyen et long terme je souhaite aussi continuer à étudier la qualité microbienne des eaux urbaines en focalisant plus particulièrement sur la problématique de la réutilisation des eaux usées traitées et des eaux de ruissellement. Je souhaiterais d'une part continuer à étudier les mycobactéries non-tuberculeuses et d'autre part étudier l'intérêt des nouveaux indicateurs de contamination fécales tels que les Bacteroidetes.

L'éducation et la formation d'ingénieurs et de chercheurs sensibilisés aux théories écologiques et d'écologues sensibilisés aux problématiques appliquées participent aussi à ce but. De ce fait mes activités d'enseignement en université et en école d'ingénieur constituent un prolongement de mes activités de recherche. La Société a besoin de microbiologistes, de spécialistes en biotechnologie et en écotechnologie, de toxicologues, d'ingénieurs et de techniciens de l'environnement avec une perspective globale et une expérience dans les approches interdisciplinaires. De part ma formation en microbiologie et en écologie je suis particulièrement consciente de ces enjeux, et tente d'apporter des éléments d'écologie dans les filières de master, d'ingénieur et dans les enseignements optionnels de licence.

Ce mémoire, s'articule donc autour de deux parties distinctes. La première partie présente les travaux de recherche que je développe au Leesu, en regard de mes acquis précédents lors de mes postdoctorats. La seconde partie est une notice individuelle détaillant mon cursus universitaire, mes publications et communications scientifiques, mes activités d'enseignement et d'encadrement d'étudiants.

ACTIVITES DE RECHERCHE

INTRODUCTION

Le terme biodiversité est un néologisme qui a été inventé en 1985 par W.G. Rosen lors de la préparation d'un colloque et a fait le titre d'un ouvrage de l'entomologiste E.O. Wilson en 1988 (1). Ce terme est vite apparu efficace pour la communication et son utilisation coïncide avec la prise de conscience de l'extinction des espèces au cours des dernières décennies. Il en a résulté une appropriation par la société, et la biodiversité est arrivée sur le devant de la scène en 1992 lors du Sommet de la Terre à Rio de Janeiro. Cette irruption de la biodiversité sur le champ médiatique a aussi eu des conséquences sur les thématiques soutenues par les programmes de recherche, à une époque où la biologie moléculaire s'imposait comme un outil performant pour étudier la diversité biologique.

A partir de mon doctorat (1994-1997), puis de mes post-doctorats (1997-2005), j'ai pu aborder différentes facettes de l'étude de la biodiversité en me focalisant sur l'écologie microbienne. Pourquoi s'intéresser aux microorganismes plutôt qu'à des organismes plus emblématiques dans le domaine de l'écologie (oiseaux, cétacés, primates...) ? Il y a de très bonnes raisons à cela mis à part que les microorganismes prennent moins de place dans le laboratoire (Figure 1).

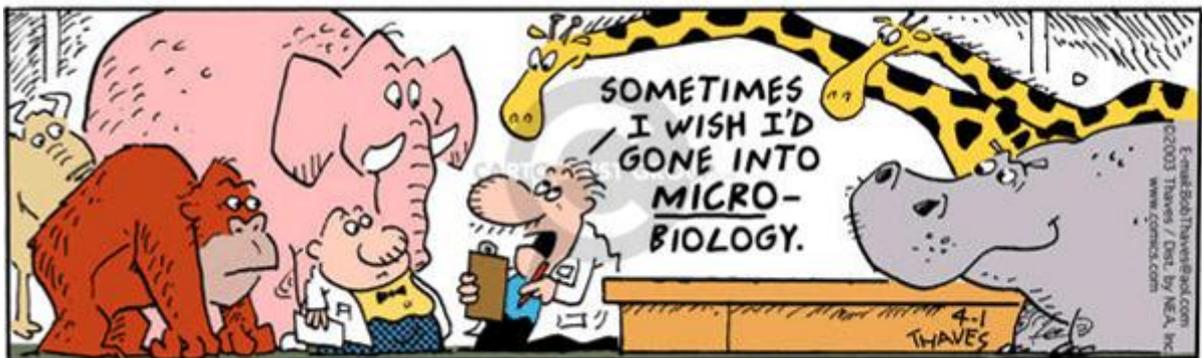


Figure 1. Frank and Ernest (Bob et Tom Thaves, 2005-04-01, dist. NEA inc.)

Tout d'abord l'écologie microbienne est un champ disciplinaire relativement jeune (années 1960) où la diversité reste encore une boîte noire, ce qui constitue un défi et génère des thèmes de recherche novateurs. De plus les microorganismes sont des modèles intéressants pour l'écologie expérimentale, car comme disait John Maynard Smith « It's bloody hell easier to get good data from bacteria than from birds » (2). Bien sûr si on s'éloigne des considérations liées à la science fondamentale pour s'intéresser aux grandes questions sociétales, la diversité des macroorganismes fait l'objet de plus d'attention dans le droit et dans les politiques d'aménagement du territoire (espèces en danger, corridors verts...). Cependant, l'utilisation constante des microorganismes dans les technologies environnementales et agro-alimentaires ainsi que la course à l'armement entre les humains et les pathogènes font de la diversité microbienne une clef pour l'intégration des connaissances écologiques dans l'amélioration et la durabilité du fonctionnement de nos sociétés, notamment pour la gestion de l'eau en milieu urbain (3).

Les recherches que j'ai menées au cours de mes post-doctorats avaient une orientation plutôt fondamentale afin de comprendre quels sont les facteurs abiotiques et biotiques qui affectent la diversité de grands groupes fonctionnels microbiens impliqués dans le recyclage des nutriments et de la matière organique (bactéries réduisant les métaalloïdes, bactéries et archées oxydant le méthane), mais également afin de comprendre comment les bactéries sont impliquées dans la survie et la reproduction des macroorganismes (bactéries du

¹ Wilson E.O., and Peter F.M. (1988). Biodiversity. National Academy Press, Washington, D.C.

² Lenski R.E., and Velicer G.J. (2000). Selection 1:51-57

³ Arnone R.D., and Perkek Walling J. (2007). Journal of Water and Health 05.1: 149-162

plumage et du tube digestif de populations d'oiseaux sauvages). Ces études se sont essentiellement effectuées dans des environnements urbains ou péri-urbains (lacs, parcs...), mais sans que cette dimension urbaine ait été réellement prise en compte dans mes recherches.

Depuis mon recrutement au Leesu, ma recherche s'est fortement ancrée dans les milieux urbains et oscille entre des aspects fondamentaux et des recherches plus appliquées dans le domaine de la gestion de l'eau. Ces deux tendances se nourrissent l'une de l'autre avec un va-et-vient entre les demandes des gestionnaires du domaine de l'eau et les recherches en écologie fondamentale sur le rôle de la diversité face aux perturbations multiples et face aux invasions par les pathogènes. Le développement de ces recherches a nécessité la mise en place d'un laboratoire de microbiologie et d'écologie moléculaire au Leesu, le recrutement d'une équipe de doctorants et post-doctorants, et la mise en place de nouvelles techniques de mesure des microorganismes (e.g. PCR temps réel, profils dHPLC).

DIVERSITE MICROBIENNE DANS LES CYCLES BIOGEOCHIMIQUES

Les communautés bactériennes sont reconnues pour être contrôlées par des facteurs abiotiques tels que les nutriments et le carbone qui servent de ressources pour leur métabolisme énergétique (1). De ce fait, les microorganismes sont les agents catalytiques centraux du cycle du carbone, de l'azote, du soufre, de l'oxygène, du phosphore et des métaux de transition. Ces processus biogéochimiques sont liés à la grande diversité taxonomique (génétique) et fonctionnelle (phénotypique) des microorganismes et à leur formidable flexibilité métabolique qui leur permet de tolérer et de s'adapter rapidement aux changements de conditions (2). Ces métabolismes sont versatiles et flexibles et permettent aux microorganismes de transformer des molécules d'origine anthropique ou encore des nutriments peu biodisponibles ou toxiques (1). Le recyclage microbien des composés organiques et inorganiques permet d'assurer un maintien de la qualité des eaux de surface soumises à des rejets ponctuels ou diffus, liés aux activités agricoles, industrielles et domestiques. Comprendre comment les communautés microbiennes s'adaptent à un apport en matière organique ou en micropolluants constitue un enjeu important pour le maintien de la qualité de l'eau. Plus généralement, il semble important de connaître comment la diversité microbienne affecte les cycles biogéochimiques et comment cette diversité varie entre les écosystèmes et en réponse aux perturbations.

Ces dernières décennies afin de comprendre quelles sont les espèces microbiennes impliquées dans la dépollution ou le contrôle des gaz à effet de serre, l'attention en écologie microbienne a été grandement portée sur le cycle de l'azote, celui du méthane et ceux de composés toxiques tels que le mercure, les hydrocarbures ou les pesticides. Dans les eaux de surface, la stimulation des processus hétérotrophes par la pollution organique peut générer des conditions anoxiques et ainsi favoriser la respiration anaérobie et donc la spéciation des métaux et métalloïdes. De plus de telles conditions peuvent aussi affecter la production de gaz à effet de serre comme le méthane ainsi que sa dégradation par oxydation en conditions oxiques et anoxiques. Ces activités microbiennes sont capables d'affecter la chimie de l'atmosphère et le climat global en influençant les bilans de gaz atmosphériques comme le méthane (3,4).

Mes recherches au cours de mes postdoctorats, se sont orientées vers l'étude de la diversité des microorganismes impliqués dans des cycles peu étudiés comme ceux de l'arsenic et du sélénium. Je me suis également intéressée à un cycle plus étudié qui est celui du méthane, en me focalisant sur la diversité des archées et des bactéries impliquées dans son oxydation. En effet, l'étude de l'oxydation anaérobie du méthane est relativement récente et les espèces bactériennes et archéennes impliquées dans les milieux dulçaquicoles restent peu connues.

I. Réduction des métalloïdes en milieu aquatique

La présence dans les eaux de métalloïdes toxiques, tels que le sélénium ou l'arsenic, provient essentiellement du lessivage de roches naturellement riches en métalloïdes. De plus certaines activités industrielles, agricoles et domestiques peuvent contribuer à la pollution des eaux de surface par des métalloïdes (5). Une fois dans l'environnement, la spéciation des métalloïdes peut être modifiée, par oxydation, réduction ou méthylation microbienne. Les activités microbiennes peuvent alors générer des espèces plus toxiques ou

¹ Schmidt T.M. (2006). *Int Microbiol*. 9(3): 217-23

² Guerrero R., and Berlanga M. (2006). *Int Microbiol* 9: 225-235

³ Conrad R. (1996). *Microbiol Rev*. 60: 609-640

⁴ IPCC (2001). In: Houghton, J.T., et al. (eds.). Cambridge University Press, 881pp.

⁵ White, C., Simon C., and Gadd G.M. (1995). *Int Biodeterior Biodegrad*. 35:17-40.

au contraire les rendre moins biodisponibles. Certains de ces processus microbiens peuvent représenter un potentiel biotechnologique pour la biorémediation des sites pollués. Cependant leur application demande de bien connaître l'écologie et la diversité des organismes impliqués, les bases génétiques et métaboliques de ces transformations, les taux *in situ* de ces transformations et leur importance quantitative.

Au cours de mon postdoctorat dans l'équipe de J.T. Hollibaugh (département des Sciences Marines, UGA, USA), je me suis intéressée à la diversité des bactéries réduisant l'arséniate dans un environnement extrême riche en arsenic (1). Je me suis également penchée sur l'adaptation de communautés bactériennes provenant d'environnements non exposés à une contamination en séléniate (2). Ces travaux ont fait l'objet d'une collaboration avec l'équipe de R. Oremland (USGA, Menlo Park) et de deux publications (1, 2). Afin d'étudier quels microorganismes sont impliqués dans la réduction dissimilative de l'arséniate (DAsR) et du séléniate (DSeR), j'ai couplé des outils moléculaires à des incubations d'eau anoxique du Lac Mono (Californie, USA) ou de la Altamaha River (Georgia, USA) avec différents inhibiteurs, donneurs et accepteurs d'électrons. Le lac terminal Mono (Figure 1) offre un système d'étude excellent pour comprendre divers aspects de la biogéochimie de l'arsenic et du sélénium en milieu aquatique car ses eaux sont riches en arsenic ($\sim 15 \text{ mg.l}^{-1}$) et en sélénium ($<79 \text{ }\mu\text{g.l}^{-1}$) (3,4). La DAsR minéralise 8 à 14 % de la production annuelle du phytoplancton dans ce lac (5).



Figure 2. Lac Mono (Ca, USA): formations cristallines liées à la forte évaporation (photo de J.T. Hollibaugh)

Les microorganismes impliqués dans la DAsR et la DSeR sont peu connus et semblent avoir des liens avec les bactéries et archées sulfato-réductrices et dénitrifiantes. Ainsi nos résultats ont montré que 25-60 % de l'activité DAsR dans les eaux anoxiques du lac Mono était liée à des bactéries sulfato-réductrices (2). L'analyse des fragments du gène de l'ARNr 16S par électrophorèse en condition dénaturante (DGGE) et par séquençage a révélé la présence de bactéries sulfato-réductrices du genre *Desulfovibrio* dans les échantillons amendés en arséniate (1). Cependant d'autres bactéries et des archées pourraient être responsables des 40-75 % de l'activité DAsR. L'analyse des profils DGGE indiquait la présence de *Thiomicrospira* sp., un chémoautotrophe connu pour oxyder le thiosulfate et les

¹ Hoelt S.E., **Lucas F.**, Hollibaugh J.T., and Oremland R.S. (2002). Geomicrobiol. J. 19: 23-40

² **Lucas F.**, and Hollibaugh J.T. (2001). Environmental Science and Technology 35: 528-534

³ Hollibaugh J.T., Carini S., Gürleyük H. et al. (2005). Geochim Cosmochim Acta 69:1925-1937.

⁴ Fisher J.C., and Hollibaugh J.T. (2008). Appl Environ Microbiol. 74: 2588-2594

⁵ Oremland R.S., Dowdle P.R., Hoelt S., et al. (2000). Geochim Cosmochim Acta 64: 3073-3084.

sulfites en présence de nitrates, l'utilisation de l'As (V) comme accepteur d'électrons par le genre *Thiomicrospira* pourrait être une piste intéressante.

Si les activités de réduction des oxyanions métalloïdes sont réalisées par des bactéries capables d'utiliser d'autres accepteurs d'électrons tels que les sulfates, cela pourrait avoir des conséquences en termes de réponse d'une communauté bactérienne à une contamination en métalloïdes. En effet soit la réduction du métalloïde par les espèces dominantes serait inhibée par la présence des autres accepteurs d'électron et une sélection d'espèces spécialistes du métalloïde s'établirait, soit au contraire la réduction du métalloïde serait effectuée par des espèces déjà dominantes qui modifieraient seulement leur métabolisme.

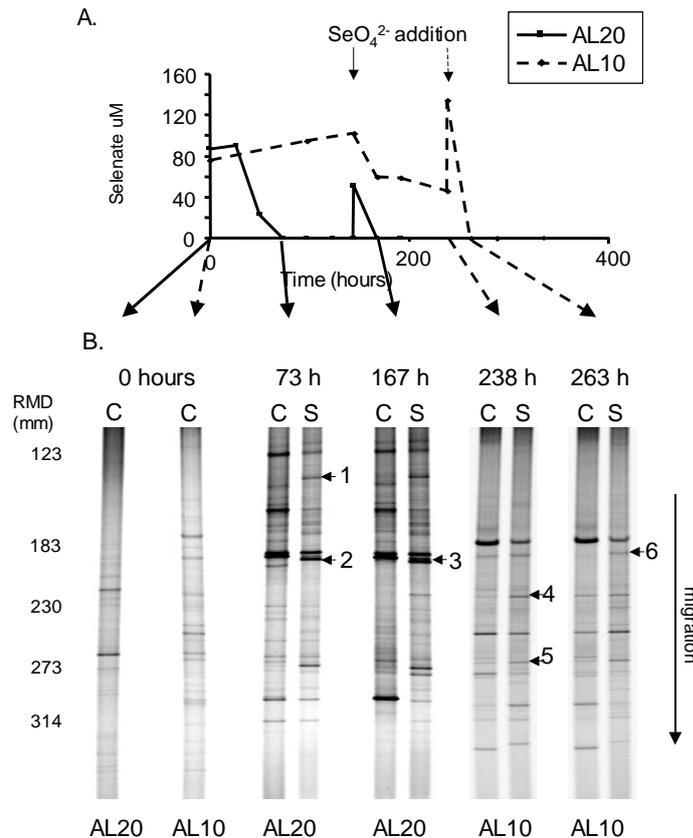


Figure 3. A. Evolution au cours du temps de la concentration en séléniate dissous (μM) dans les microcosmes composés de sédiments prélevés à 10 km (AL10) et 20 km (AL20) de l'estuaire de la rivière Altamaha (GA, USA). Les bandes séquencées sont indiquées par les numéros 1 à 6. C : traitement sans ajout de séléniate, S : traitement avec ajouts de séléniate

Pour tester cette hypothèse, j'ai évalué la réponse de communautés bactériennes « naïves » à un apport en séléniate. Pour cela j'ai préféré étudier les sédiments collectés le long de l'estuaire de la rivière Altamaha car c'est un environnement faiblement contaminé par le séléniate. Nos résultats ont clairement montré qu'il y eu sélection plutôt que versatilité métabolique. En effet, l'ajout de séléniate a provoqué des changements de profils DGGE des fragments d'ARNr et d'ADNr 16S (1, Figure 3). Par contre, les communautés capables de réduire les séléniates dans les différents échantillons collectés le long de la rivière n'ont pas convergées sur le plan taxonomique, avec seulement 12 à 50 % de similitude entre les

¹ Lucas F., and Hollibaugh J.T. (2001). Environmental Science and Technology 35: 528-534

assemblages bactériens (1). La communauté la plus active était dominée par le genre *Acinetobacter*, qui n'avait encore jamais été associée à la DSeR précédemment. Les communautés microbiennes sont supposées être résistantes, résilientes et/ou présenter une forte redondance fonctionnelle. Cependant une étude bibliographique a montré que cette idée généralement répandue est fautive : les communautés bactériennes sont sensibles aux perturbations (nutriments, température) et peu résilientes (1). De plus Bell et al. (2) ont montré que les taux de respiration de la matière organique étaient significativement affectés par la diversité et par la composition des communautés bactériennes. C'est également ce que suggèrent nos résultats, des communautés de composition différentes (le long d'un gradient environnemental estuarien) n'ont pas la même capacité à réduire le séléniate.

Cette recherche sur la diversité des bactéries impliquées dans la réduction des oxyanions de métalloïdes (arsenic et sélénium) a donc permis d'identifier de nouveaux taxons pouvant potentiellement être impliqués dans ces activités dans les environnements aquatiques. Afin de vérifier leur réelle implication dans ces activités de réduction, il serait possible de réaliser des études au microscope en couplant des sondes nucléiques spécifiques pour ces espèces et des isotopes radioactifs de séléniate ou d'arsenic (technique FISH-MAR). Par ailleurs nos expériences ont montré que les communautés bactériennes répondent à un apport en métalloïde en modifiant leur composition. Il serait intéressant de réaliser des expériences pour vérifier si des communautés de composition et diversité différentes répondent systématiquement par une sélection d'espèces compétitives ou si à de faibles niveaux de diversité la versatilité métabolique devient un mécanisme prédominant.

¹ Allison S.D., and Martiny J.B.H. (2008). PNAS 105 (Suppl. 1):11512-11519

² Bell T., Newman J.A., Silverman B.W., et al.. (2005). Science 308: 1884

II. Oxydation du méthane dans un lac urbain

Cette étude a été menée à l'Eawag (Kastanienbaum, Suisse) au sein du groupe de recherche de C. Schubert en collaboration avec B. Müller, et a permis l'encadrement d'une étudiante de master, E. Aguilar. Deux communications orales dans des colloques internationaux ont fait l'objet d'un article dans des numéros spéciaux (1, 2), et un article sur la dynamique saisonnière du méthane dans le lac Rotsee est publié dans *Aquatic Sciences* (3).

Le méthane constitue un gaz à effet de serre vingt fois plus efficace que le CO₂ et de ce fait, étudier les processus générant ou consommant du méthane représente un enjeu majeur (4). La production de méthane en milieu aquatique peut provenir de sources géologiques ou de la méthanogénèse. Le long de la colonne d'eau le méthane émis par le fond est oxydé par différents microorganismes en conditions anoxiques (oxydation anaérobie) et à l'interface oxiq-anoxiq (oxydation aérobie). L'oxydation aérobie est réalisée par des Protéobactéries (MOB de type I et II). Plus récemment découverte, l'oxydation anaérobie semble être effectuée par des archées des groupes ANMEs en consortium avec des bactéries sulfato-réductrices (5). Cependant des études récentes ont également mis en évidence des acteurs différents avec un couplage de l'oxydation anaérobie du méthane et de la dénitrification (6, 7). La plupart des études portant sur l'oxydation anaérobie du méthane se focalisent sur les sédiments marins et rarement sur les milieux dulçaquicoles. Seules deux études récentes sont disponibles sur la colonne d'eau de lacs incluant le travail que je vous présente (8, 3). Toutefois les lacs devraient être considérés comme une source significative dans les budgets globaux de méthane puisqu'ils représentent 6–16% des émissions naturelles totales. Etant donné le nombre croissant de zones humides, lacs et étangs créés dans les zones urbaines et périurbaines dans le cadre de la gestion de l'eau et de la qualité de l'environnement urbain, il semble judicieux de se demander s'ils pourraient aussi constituer une source de méthane. Les lacs et plans d'eau urbains sont soumis à de fortes perturbations anthropiques qui pourraient modifier les métabolismes microbiens liés au cycle du méthane et ainsi affecter les émissions de méthane dans l'atmosphère.

Ainsi, le lac urbain Rotsee (Lucerne, Suisse) a reçu un apport constant en matière organique ces dernières décennies par les eaux usées et pluviales. Une production élevée en méthane y est observée atteignant jusqu'à 1 mM en automne, le lac constituant une source de méthane (1, 3). L'abondance des méthanogènes dans ses sédiments (9) et la présence de bactéries sulfato-réductrices (10), semblent indiquer la possibilité de réduction anaérobie du méthane dans la colonne d'eau. Afin de déterminer si l'oxydation anaérobie du méthane est persistante dans ce lac, nous avons étudié l'oxydation du méthane pendant une année complète, en mesurant les concentrations en méthane, les taux d'oxydation et une

¹ Schubert C.J., **Lucas F.S.**, Durisch-Kaiser E., et al. (2007). 12th International Symposium on Water-Rock Interaction (WRI-12), Jul 31-Aug 05, Kunming People R China. *Water-Rock Interaction, Proceedings*, 1- 2: 891-894

² Schubert C.J., Diem T., **Lucas F.S.**, et al. (2009). 19th Annual VM Goldschmidt Conference, Jun 21, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 73: A1185-A1185

³ Schubert C.J., **Lucas F.S.**, Durisch-Kaiser E., et al. (2010). *Aquat. Sci.* 72: 455-466

⁴ Valentine D.L. (2000). *Biogeochemistry of Hydrogen and Methane in Anoxic Environments: Thermodynamic and Isotopic Studies*. Ph.D. Thesis, Earth System Science, University of California at Irvine, pp. 173.

⁵ Boetius A., Ravenschlag K., Schubert C.J., et al. (2000). *Nature* 407: 623–626

⁶ Raghoebarsing A.A., Pol A., van de Pas-Schoonen K.T., et al. (2006). *Nature* 440: 918-921.

⁷ Ettwig K.F., Shima S., van de Pas-Schoonen K.T., et al. (2008). *Environ Microbiol.* 10:3164–3173

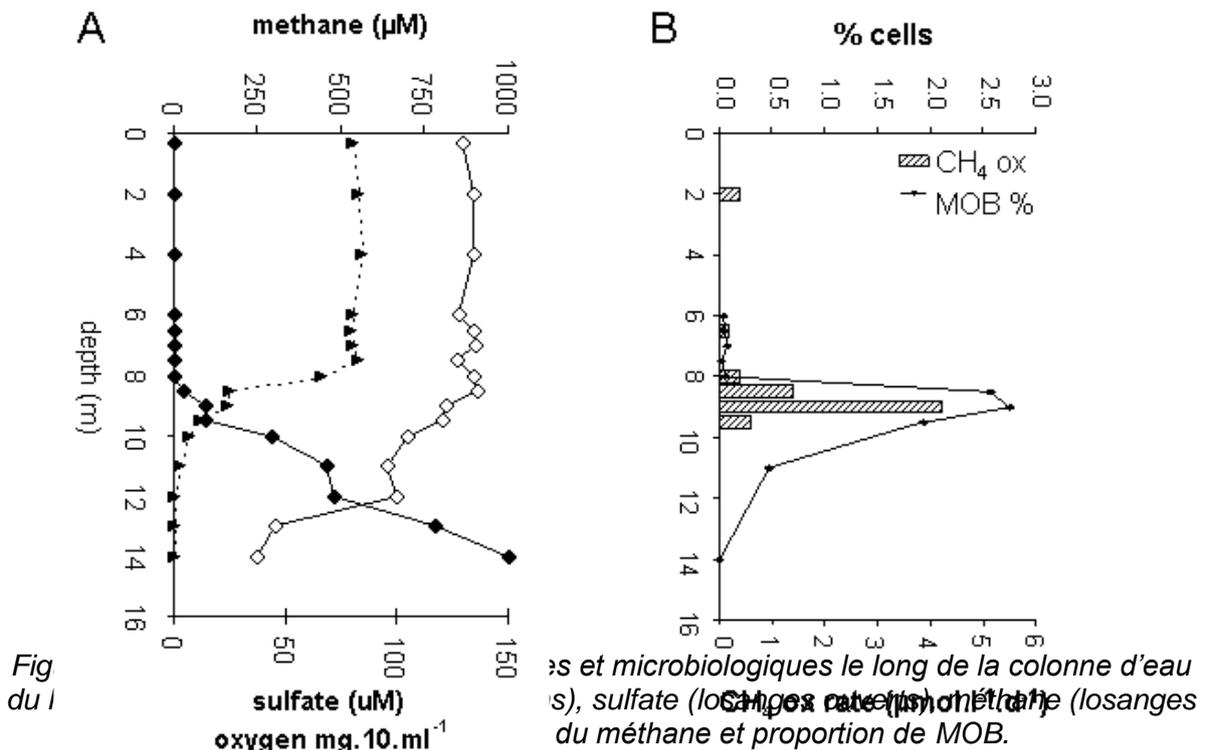
⁸ Eller G., Kanel L.K., and Krüger M. (2005). *Appl Environ Microbiol.* 71:8925–8928

⁹ Zepp Falz K., Holliger C., Grosskopf R., et al. (1999). *Appl Environ Microbiol.* 65:2402–2408

¹⁰ Sahan M., 2004: DEFPOS: design, performance characteristics and first results. Ph.D. Thesis, University of Cukurova, Adana, Turkey

étude plus pointue à été réalisée à l'automne sur la diversité et l'activité des microorganismes impliqués dans l'oxydation du méthane en conditions oxiques et anoxiques.

En automne 2004 l'oxydation du méthane était maximale à l'interface oxique-anoxique, atteignant $5,2-5,5 \mu\text{M}\cdot\text{jour}^{-1}$ entre 8 et 10 m de profondeur (Figure 4), ce qui était confirmé par les profils de composition isotopique du méthane (2). Ces résultats concordaient avec la détection par hybridation *in situ* (Fluorescent In Situ Hybridization) d'un maximum de MOB type I (*γ-Proteobacteria*) proches de l'espèce *Methylomonas rubra* dans l'interface oxique-anoxique (2, Figure 4). Les MOB sont souvent localisées dans une étroite zone au niveau de la thermocline où les concentrations en oxygène sont faibles (1). Bien que la dominance du type I ne soit pas universelle dans les eaux douces, elle a été constatée dans plusieurs lacs tempérés (2). L'oxydation anaérobie du méthane par les archées prend préférentiellement place dans la zone anoxique de transition entre le méthane et les sulfates (3). A la fin de la période de stratification des eaux une réduction des sulfates concomitante avec l'oxydation du méthane pouvait être observée dans le lac Rotsee (4). En automne, à des profondeurs supérieures à 10 m les taux d'oxydation du méthane étaient faibles voire en-dessous de la limite de détection (2, Figure 4). Le séquençage de plusieurs bandes DGGE a montré la présence d'*Euryarcheota* non-identifiées, mais aucune n'appartenait au groupe des ANMEs. Dans tous les cas les flux de sulfate en dessous de la chemocline n'étaient pas suffisants pour oxyder tout le méthane et d'autres oxydants tels que les nitrates, les oxydes de fer ou de manganèse seraient nécessaires pour expliquer les taux d'oxydation anaérobie de méthane observés.



Cette étude est un exemple parfait de l'importance des activités microbiennes pour réduire de manière significative les émissions de méthane des lacs. Cependant malgré l'oxydation aérobie et anaérobie, le lac Rotsee était quand même une source de méthane pour l'atmosphère avec des taux d'émission entre $0.2 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2}\cdot\text{jr}^{-1}$ en février and 7 mg

¹ Fenchel T., and Blackburn T.H. (1979). Bacteria and mineral cycling. Academic Press, London

² Sundh I., Bastviken D., and Tranvik L.J. (2005). Appl Environ Microbiol 71:6746–6752

³ Valentine D.L. (2002). Antonie van Leeuwenhoek. 81(1): 271-282.

⁴ Schubert C.J., **Lucas F.S.**, Durisch-Kaiser E., et al. (2010). Aquat. Sci. 72: 455-466

$\text{CH}_4 \text{ m}^{-2} \cdot \text{jr}^{-1}$ en novembre. Des changements de conditions (facteurs biotiques ou abiotiques) dans ces lacs qui modifieraient l'activité, la densité et la composition de ces groupes fonctionnels microbiens pourraient augmenter l'émission de méthane par les lacs. A l'occasion d'études supplémentaires, il serait important d'évaluer la contribution des nouveaux métabolismes microbiens couplés à l'oxydation du méthane en condition anoxique.

III. Bilan

Bilan de mes recherches sur la diversité microbienne dans les cycles biogéochimiques:

Laboratoires	Marine Dept., UGA, USA SURF, EAWAG, Suisse
Acteurs	J.T. Hollibaugh (Marine Dept. UGA, USA), Oremland (USDS, USA), C. Schubert, E. Durich-Kaiser et B. Müller (SURF, EAWAG, Suisse),
Etudiants	1 étudiante en stage Lycée (Marine Sci Dept, UGA) E. Aguilar (stage de master, SURF, EAWAG)
Financements	1998-2000 : NSF grant attribuée à J. T. Hollibaugh. US Geological Survey grant attribuée à R.S. Oremland 2005: financement Eawag attribué à C. Schubert et B. Müller.
Publications	Lucas et Hollibaugh (2001), Hoefl et al. (2002), Schubert et al. (2007), Schubert et al. (2009), Schubert et al. (2010)

DIVERSITE BACTERIENNE DANS LES RESEAUX TROPHIQUES

Les eucaryotes ont émergé dans un monde microbien et ont gardé des connections intimes et une dépendance vis-à-vis des bactéries et des archées. Au sein d'un écosystème les espèces eucaryotes, bactériennes et archéennes interagissent les unes avec les autres de manière directe ou indirecte, affectant la dynamique de chaque espèce et le fonctionnement de l'écosystème (1, 2). Il est possible d'étudier les interactions entre les eucaryotes et les bactéries à deux niveaux d'intégration, soit au niveau de la population, soit au niveau du réseau trophique.

Si on s'intéresse à une population eucaryote donnée, par exemple une espèce de l'embranchement des Vertébrés, la génétique et l'histoire de trait de vie des individus qui la composent peuvent affecter la dynamique et la diversité des communautés bactériennes en interaction avec cette population eucaryote. En effet les vertébrés portent des populations microbiennes denses qui jouent un rôle important dans le maintien de leur condition physique, de leur capacité reproductrice et de leur santé (3, 4). La modification de l'environnement (e.g. diminution d'une ressource, apport en polluant) peut transformer les traits de vie et le comportement des animaux, affectant indirectement les espèces microbiennes qui interagissent avec eux que ce soit des mutualistes ou des pathogènes. Cependant jusqu'à présent la plupart des études sur les animaux ignorent les interactions avec les microorganismes ou se focalisent uniquement sur des études épidémiques chez les animaux domestiques ou sauvages.

Au sein des réseaux trophiques, les vertébrés jouent un rôle important dans le fonctionnement des écosystèmes en exerçant une prédation sélective et en régénérant des nutriments (5). Malgré la menace d'extinction de nombreuses espèces de vertébrés, il existe peu d'études sur les effets de la diversité des consommateurs et la structure des réseaux trophiques sur les processus de l'écosystème (6, 7). Or dans un système multitrophique des changements de diversité à un niveau trophique peuvent entraîner des changements en cascade de densité et de diversité dans les autres niveaux (8, 9). Ce type d'interactions, appelé cascade trophique, peut descendre jusqu'au niveau microbien, et potentiellement affecter la diversité et l'activité des communautés microbienne. Ainsi il a été montré que les prédateurs peuvent fortement influencer les taux de décomposition de la matière organique (5). Cependant les quelques études portant sur l'impact des cascades trophiques sur les microorganismes donnent des résultats contradictoires qui ne permettent pas de trancher (10).

Il existe donc un vaste champ d'étude encore peu exploré sur les interactions entre les eucaryotes et les bactéries, que ce soit au niveau population ou au niveau réseau trophique. Au cours de mes activités de doctorat, de post-doctorat et depuis mon recrutement au Leesu, j'ai exploré l'impact des interactions directes ou indirectes entre macroorganismes et microorganismes sur la diversité microbienne. Lors de ma thèse, j'ai montré que le polychète *Hediste diversicolor* exerçait un contrôle direct (ingestion et lyse des bactéries du sédiment)

¹ Morin P. (2003). *Ecology* 84: 577-580.

² Finlay B.J., Maberly S.C., and Cooper J.I. (1997). *Oikos* 80: 209-213

³ Lynch J.M., and Hobbie J.E. (1988). *Micro-organisms in action: Concepts and applications in microbial ecology*. Blackwell Science Ltd, 368 pp.

⁴ Whitman W.B., Coleman D.C., and Wiebe W.J. (1998). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 6578-6583

⁵ Duffy JE. (2002). *Oikos* 99: 201-219.

⁶ Schmid B., Hector A., Huston M.A., et al. (2002). In: *Biodiversity and Ecosystem Functioning*. Loreau M., Naeem S., and Inchausti P. (eds), Oxford University Press, Oxford., pp. 61-78.

⁷ Díaz S., Symstad A.J., Chapin F.S., et al. (2003). *Trends Ecol Evol*. 18: 140-146.

⁸ Pace M.L., Cole J.J., Carpenter S.R., and Kitchell J.F. (1999). *Trends in Ecology and Evolution* 14: 483-488.

⁹ Dyer L.A., and Letourneau D.K. (2003). *Ecology Letters* 6: 60-68.

¹⁰ Zöllner E., Santer B., Boersma M., et al. (2003). *Freshwater Biology* 48: 2174-2193.

et indirect (bioturbation) sur la dynamique des communautés bactériennes des sédiments (1, (1, 2). Lors de mon postdoctorat dans l'équipe de P. Heeb (Université de Lausanne, Suisse), j'ai cherché à comprendre comment les modifications de comportement et d'environnement de populations de passereaux pouvaient affecter les communautés bactériennes qui leur sont associées et quelles pouvaient être les conséquences pour le succès reproducteur et la survie de l'animal. Depuis mon recrutement au Leesu, j'ai élargi la problématique à l'impact des modifications du réseau trophique sur la diversité et l'activité bactérienne en milieu lacustre urbain.

I. Interactions oiseaux-bactéries

Les facteurs qui façonnent l'établissement, la dynamique et la composition des bactéries du tube digestif sont peu connus chez les oiseaux. Il est supposé que le processus de colonisation du tube digestif par les bactéries environnementales juste après l'éclosion est suivi par une augmentation de la diversité jusqu'à l'établissement d'une communauté stable à l'âge adulte (3). La sélection des espèces microbiennes en fonction des caractéristiques du milieu intestinal va dépendre en partie de l'environnement qui influence le comportement, le niveau de stress, et l'état de santé de l'hôte (4). L'établissement et la maintenance des microorganismes entériques impliquent aussi des facteurs génétiques qui définissent le régime alimentaire, la forme du tube digestif, le système immunitaire (5, 6, 7). Cependant l'importance relative de ces différents facteurs est encore mal comprise, les manipulations expérimentales pour tester le rôle relatif des facteurs environnementaux et génétiques dans l'établissement des communautés bactériennes restant rares.

Les bactéries associées aux vertébrés peuvent exercer à la fois des effets négatifs et positifs sur la santé et le succès reproducteur de leur hôte. D'un côté, les microorganismes du tube digestif jouent un rôle positif dans la nutrition, la détoxification, la croissance, et la protection contre les pathogènes (8). D'un autre côté, les pathogènes et les parasites peuvent constituer une source de mortalité et de baisse de fitness chez les oiseaux sauvages (9, 10). En réponse au coût du parasitisme, les hôtes ont développé des stratégies d'évitement ou de réduction de ces effets parasitaires par des moyens comportementaux, mécaniques ou immunologiques. Les communautés microbiennes pourraient donc potentiellement servir d'indicateur de fitness chez les oiseaux. Cependant l'effet des communautés microbiennes sur la survie et la reproduction des vertébrés en général et des oiseaux en particulier est encore peu étudié.

Dans le cadre de mon postdoctorat au sein du groupe de recherche de P. Heeb (Institut d'Ecologie et d'Evolution, UNIL, Suisse), nous avons mis en place une approche interdisciplinaire pour étudier des relations entre des populations d'oiseaux sauvages et les communautés bactériennes qui leur sont associées. Nous cherchions à comprendre comment les changements de l'environnement externe et interne de l'oiseau peuvent altérer la diversité bactérienne du plumage et du cloaque, et quelles pouvaient être les conséquences sur le succès reproductif et l'évolution du comportement de l'oiseau. Au cours

¹ **Lucas F.**, and Bertru G. (1997). *J Exp Mar Biol Ecol.* 215: 235-245.

² **Lucas FS.**, Bertru G., and Höfle M.G. (2003). *Aquat Microb Ecol.* 32: 165-174

³ Mills, T.K., Lombardo, M.P., and Thorpe, P.A. (1999). *Auk* 116: 947_ 956.

⁴ Møller A.P., Erritzøe J., and Saino N. (2003). *Am Nat.* 161: 657_ 671.

⁵ Stern N.J., Meinersmann R.J., Cox N.A., et al. (1990). *Avian dis.* 34: 602_ 606.

⁶ Hooper L.V., and Gordon, J.I. (2001). *Science* 292: 1115-1118

⁷ Toivanen P., Vaahtovu J., and Eerola E. (2001) *Infect Immun.* 69: 2372-2377.

⁸ Mead G.C. (1997). In: *Gastrointestinal microbiology 2.2 Gastrointestinal microbes and host interactions.*

Mackie R.I., White B.A., and Isaacson R.E. (eds). Chapman and Hall, New York, pp.216-240.

⁹ Hudson P.J., and Dobson A.P. (1991). In: *Bird-parasite interactions.* Loye J.E., and Zuk M. (eds). Oxford University Press, New York.

¹⁰ Nuttall P.A. (1997). In: *Host-parasite evolution. General principles and avian models.* Clayton D.H., and Moore J. (eds). Oxford University Press, Oxford, pp. 271-302.

de ce postdoctorat j'ai participé à l'encadrement du doctorat de B. Moureau (dirigé par P. Heeb) et dans le cadre d'une collaboration avec J. Soler (CSIC, Almeria, Espagne) sur le parasitisme de ponte des pies par le coucou-geai, j'ai également participé à l'encadrement de la thèse de M. Ruis-Rodriguez. L'encadrement de ces deux thésards a donné lieu à plusieurs publications (1, 2, 3).

I.1 Facteurs génétiques vs environnementaux

Afin de déterminer la contribution relative des facteurs environnementaux et génétiques sur la diversité des communautés bactériennes cloacales chez les poussins d'oiseaux sauvages, nous avons réalisé des expérimentations sur le terrain en manipulant la composition des nichées de deux modèles biologiques différents sur le point de l'importance des facteurs génétiques. Le premier modèle était constitué de deux espèces de mésanges proches sur le plan taxonomique : la mésange charbonnière (*Parus major*) et la mésange bleue (*Parus ceruleus*) qui présentent le même habitat et le même régime alimentaire (4, 5). Ces espèces exploitant les mêmes ressources, pourraient tirer un avantage sélectif vis-à-vis de la compétition pour la ressource en fonction des communautés bactériennes colonisant leur tube digestif. Le deuxième modèle était un parasitisme de ponte impliquant deux espèces éloignées sur le plan phylogénétique : la pie (*Pica pica*) et le coucou geai (*Clamator glandarius*). Les adultes n'ont pas le même régime alimentaire mais les jeunes hôtes et parasites partagent la même nourriture dans le même nid lors de leur croissance. La pie adulte est omnivore alors que le coucou adulte ne se nourrit que de chenilles (6). L'adaptation du jeune parasite au régime alimentaire de l'hôte pourrait exercer des contraintes sur son développement et donc sur son succès à l'envol et son futur succès reproducteur.

Nos expériences ont donné des résultats contrastés entre les deux modèles biologiques concernant la structure des communautés bactériennes cloacales. L'analyse des profils de l'espace intergénique de l'opéron *rrn* (RISA) a montré que pour l'expérience réalisée sur les mésanges, les effets liés à l'origine (espèce et effet maternel) ne pouvaient pas être détectés, et étaient dominés par les effets environnementaux récents (nid d'élevage). Les conditions de croissance dans le nid et les facteurs individuels constituaient les principaux facteurs structurant les communautés bactériennes chez les poussins de ces deux espèces de mésange (7). Par contre pour le modèle pie-coucou geai, les profils RISA des bactéries cloacales n'étaient pas expliqués uniquement par le nid d'élevage, mais aussi fortement par l'origine (2). Le tube digestif des coucou-geais n'a pas la même morphologie que celui de la pie. Il est plus complexe, offrant plus de niches écologiques (8), ce qui pourrait expliquer pourquoi les communautés microbiennes étaient significativement plus variées chez les poussins de coucou-geais (Figure 5). La diversité bactérienne du tube digestif du coucou pourrait permettre aux jeunes parasites la digestion d'une nourriture plus diversifiée et ainsi compenser la mauvaise adaptation du tube digestif pour un régime alimentaire de pie.

L'analyse moléculaire des communautés bactériennes a donc apporté un éclairage intéressant et nouveau sur ce modèle de co-évolution de parasitisme de ponte, montrant que les communautés microbiennes du tube digestif peuvent potentiellement influencer le développement des poussins, en assurant la digestion. Les nouvelles hypothèses soulevées

¹ **Lucas F.S.**, Moureau B., Jourdie V., and Heeb P. (2005). *Mol Ecol.* 14: 639-646.

² Ruiz-Rodríguez M., **Lucas F.S.**, Heeb P., and Soler J.J. (2009). *Biol J Linn Soc.* 96: 406-414.

³ Ruiz-Rodríguez M., Soler J.J., **Lucas F.S.**, et al. (2009). *J Avian Biol.* 40: 42-48

⁴ Perrins C.M. (1979). *British tits.* Collins, Glasgow.

⁵ Nour N., Currie D., Matthysen E., et al. (1998). *Oecologia* 114: 522_ 530.

⁶ Soler M., Martínez J.G., Soler J.J., Møller A.P. (1995). *Behavioural Ecology and Sociobiology* 37: 7-13

⁷ **Lucas F.S.**, and Heeb P. (2005). *J avian biol.* 36: 510-516

⁸ Langer P. (2002). *Mammal Review* 32: 107-131.

par cette étude resteraient à être testées, des études comparatives de digestibilité de différentes sources de nourriture seraient notamment nécessaires.

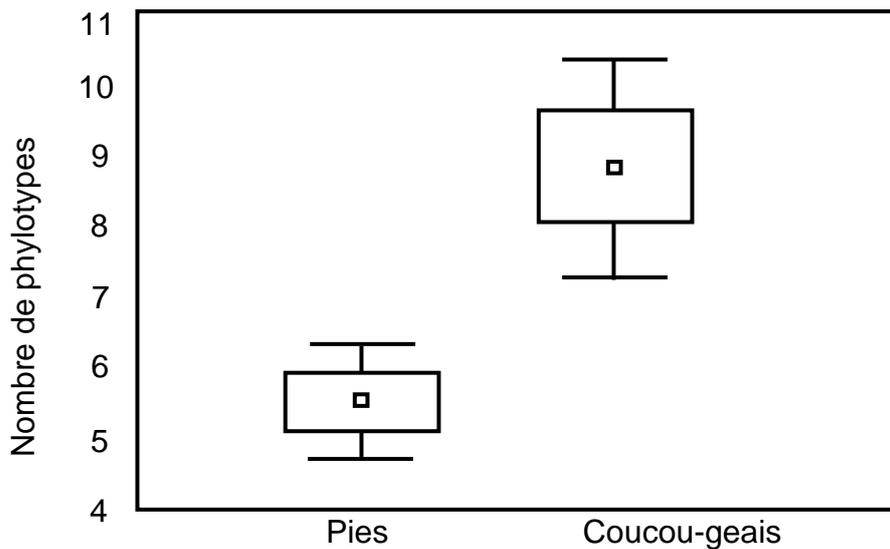


Figure 5. Différence de richesse taxonomique (nombre de phylotypes) entre les jeunes pies ($n=41$) et les jeunes coucou-geais (25).

I.2 Les bactéries indicatrices de la qualité phénotypique

Des théories récentes sur le rôle des pathogènes dans la sélection sexuelle et la dynamique des populations de vertébrés (1, 2) appuyées par des études expérimentales récentes (3, 4, 5) ont suggéré que les microorganismes façonnent de nombreux traits affectant la dynamique des populations aviaires. En effet, les pathogènes exercent une pression de sélection élevée sur leur hôte en détournant des ressources énergétiques et nutriments qui seraient autrement utilisés pour la croissance, la maintenance et la reproduction de l'hôte. En réponse au coût du parasitisme, les hôtes ont développé des stratégies d'évitement ou de réduction de ces effets parasites par des moyens comportementaux, mécaniques ou immunologiques. Il y a de ce fait une relation entre l'immunocompétence et les traits liés à la reproduction. Les caractéristiques (composition, diversité, activité, densité) des communautés microbiennes associées aux oiseaux devraient donc être liées aux traits reflétant le développement et la survie de l'animal. Les communautés bactériennes associées aux oiseaux pourraient donc constituer des indicateurs de qualité de l'individu et par conséquent des indicateurs de fitness (succès reproducteur, survie...) de ces individus. Pour tester cette hypothèse nous avons utilisé deux modèles d'interaction oiseau-microorganismes différents : les bactéries du cloaque et les bactéries du plumage. Les microorganismes du tube digestif vont non seulement influencer le stockage d'énergie et l'optimisation de l'acquisition de la nourriture, mais aussi par

¹ Hamilton W.D., and Zuk M. (1982). *Science* 218: 384-387.

² Clayton D.H., and Moore J. (1997). *Host-Parasite Evolution: General Principles and Avian Models*. Oxford University Press. Oxford.

³ Grenfell B.T., and Dobson A.P. (1995). *Ecology of infectious diseases in natural populations*. Cambridge: Cambridge University Press.

⁴ Mills T.K., Lombardo M.P., and Thorpe P.A. (1999). *Auk* 116: 947-956.

⁵ Potti J., Moreno J., Yorio P., et al. (2002). *Ecol Lett.* 5: 709-714.

exclusion compétitive diminuer l'effet négatif des pathogènes sur le développement et la santé du jeune oiseau (1). Par ailleurs, les bactéries dégradant la kératine peuvent potentiellement endommager les plumes des oiseaux et générer un coût en terme d'isolation thermique et de performance du vol (2, 3, 4).

Ainsi, nous avons montré en manipulant les nichées de pies et coucou-geais que la structure des communautés bactériennes du cloaque était liée aux conditions de développement des jeunes dans le nid et pourrait constituer un indicateur du succès après-envol des deux espèces (5). En effet, les profils RISA des bactéries du cloaque des jeunes pies étaient corrélés avec la réponse immunologique et pour les jeunes coucous la similarité des communautés bactériennes cloaquales était corrélée aux indicateurs de condition physique (11). La condition physique et la réponse immunologique sont des traits dépendant des conditions de nutrition par le biais d'un compromis sur l'allocation de ressource (6). Nos résultats montreraient que les deux espèces n'ont pas la même allocation de ressource et ceci se reflète dans la structure de la communauté bactérienne du cloaque. En effet, le coucou-geai est une espèce migratrice, or la probabilité de survie du coucou-geai pendant la migration dépend de sa condition physique (7, 8). Ainsi Lombardo et al. (9) ont déjà montré une relation entre la charge en bactéries du cloaque des hirondelles et la longueur des ailes (indicateur de condition physique). Par contre il ne semble pas que la relation avec la réponse immunitaire observée chez les pies soit liée à la présence de pathogènes, les poussins des deux espèces ne différaient pas significativement à ce sujet (Tableau 1, 10).

Tableau 1 Prévalence de salmonelle, de Campylobacter ou de Escherichia coli entéropathogène dans les échantillons cloaquaux des jeunes pies et coucou-geais (en %)

Espèce	<i>Salmonella</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>Escherichia coli</i>
Pie (n=36)	2.7	8.3	47.2
Coucou-geai (n=41)	9.8	9.8	31.7

L'hypothèse que les communautés bactériennes cloaquales pourraient constituer des indicateurs de qualité de l'individu semble particulièrement évidente pour les juvéniles qui comme nous l'avons montré présentent des communautés bactériennes influencées par la qualité des parents et le nid d'élevage. Cependant cette hypothèse pourrait aussi s'appliquer aux adultes. Nous l'avons donc testée sur des adultes en période de reproduction, en nous intéressant aux communautés bactériennes du plumage. En effet il existe un compromis entre l'investissement dans la reproduction et la maintenance corporelle. Ainsi, en période de reproduction les adultes passent plus de temps à s'occuper de leur nichée et moins de temps à entretenir leur plumage (11). Ce compromis permet de mettre en évidence la qualité phénotypique des parents et pourrait se répercuter sur la qualité du plumage et sur les communautés bactériennes le colonisant. En effet le comportement de nettoyage des plumes peut affecter de manière mécanique et chimique la communauté bactérienne qui

¹ Riley M.A., and Wertz J.E. (2002). *Annu Rev Microbiol.* 56: 117-137.

² Møller A.P. (1991). *Proceedings of the Royal Society of London B, Biological Sciences* 243: 59-62.

³ Booth D.T., Clayton D.H., and Block B.A. (1993). *Proceedings of the Royal Society of London B, Biological Sciences* 253: 225-229.

⁴ Burt E.H., and Ichida J.M. (1999). *Auk* 116: 364-372.

⁵ Ruiz-Rodríguez M., Soler J.J., **Lucas F.S.**, et al. (2009). *J Avian Biol.* 40: 42-48

⁶ Soler J.J., Moreno J., and Potti J. (2003). *Evolutionary Ecology Research* 5: 259-272.

⁷ Reed A., and Plante N. (1997). *Journal of Wildlife Management*, 61(2): 413-419.

⁸ Schmutz J.A., and Ely C.R. (1999). *Journal of Wildlife Management* 63:1239-1249.

⁹ Lombardo M.P., Thorpe P.A., Cichewicz R., et al. (1996). *Condor* 98: 167-172.

¹⁰ Ruiz-Rodríguez M., **Lucas F.S.**, Heeb P., and Soler J.J. (2009). *Biol J Linn Soc.* 96: 406-414.

¹¹ Merilä J., and Hemborg C. (2000). *Journal of Avian Biology* 31: 504-510.

colonise le plumage. Par exemple, la sécrétion de la glande uropygienne que les oiseaux étalent sur leurs plumes pour les entretenir, contient des substances antibactériennes (1).

Burt et Ichida (2) a montré parmi les bactéries du plumage la présence de bactéries dégradant la kératine chez de nombreuses espèces aviaires sauvages. Ces bactéries sont sans doute acquises par contact avec le nid, le sol ou la végétation. Lors d'une étude sur la dégradation des plumes, nous avons trouvé que la diversité des bactéries kératinolytiques du sol était très élevée (3). Par séquençage des gènes d'ARNr 16S, nous avons montré que cette fonction était présente dans le genre *Bacillus*, chez les Actinobactéries, les cytophagales et les α - et γ -Protéobactéries (2). Une collaboration avec A. Brandelli (Université de Sao Paulo, Brésil) nous a permis d'identifier d'autres bactéries mésophiles dégradant activement les plumes, *Chryseobacterium* sp. Kr6 (4), *Microbacterium* sp. Kr10 (5) (5) et le genre *Bacillus* (6) provenant de sols et de rivières brésiliens.

Outre le fait que ces souches mésophiles présentent un intérêt potentiel en biotechnologie pour traiter les tonnes de plumes des élevages de volaille, leur présence sur le plumage des oiseaux ouvre la voie à de nouvelles recherches en écologie évolutive sur les interactions entre les vertébrés et les microorganismes. En effet, la mue et les comportements de nettoyage des plumes pourraient avoir évolué en réponse à la présence de bactéries kératinolytiques sur le plumage. Ainsi en réalisant des échanges de poussins entre différents nids d'étourneau sansonnet (*Sturnus vulgaris*) pour augmenter ou diminuer la taille de la nichées, nous avons montré que les densités de bactéries différaient en fonction de la taille de la nichée et donc en fonction de l'investissement parental. Les individus aux nichées augmentées portaient significativement plus de bactéries libres que les individus aux nichées réduites (7, Figure 6).

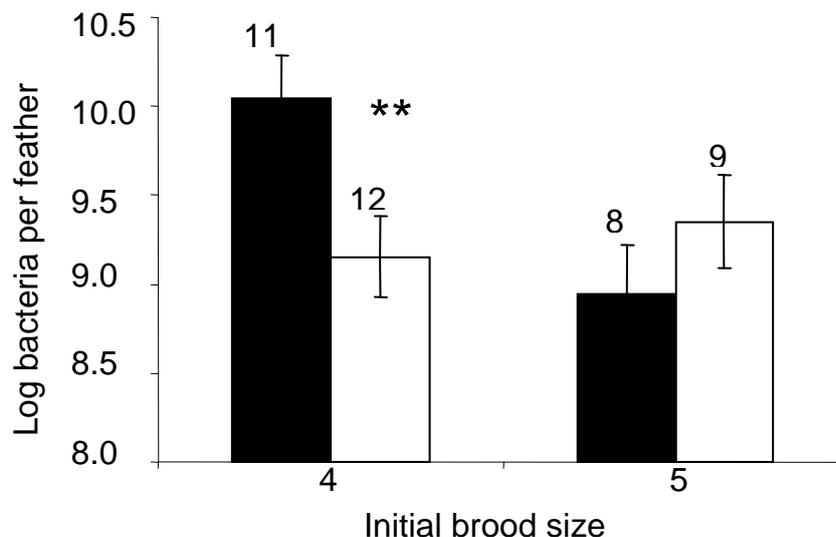


Figure 6. Effet de la manipulation de taille de nichée sur les densités de bactéries libres par plume, pour les nichées initialement à 4 et 5 jeunes. Les barres pleines représentent les nichées augmentées, les barres ouvertes les nichées réduites. Les deux étoiles indiquent une différence significative (Anova, $F_{1,21} = 11.91$, $p < 0.01$).

¹ Jacob J., Eigener U., and Hoppe U. (1997). Zeitschrift für Naturforsch C 52: 114–123

² Burt E.H., and Ichida J.M. (1999.) Auk 116: 364–372.

³ **Lucas F.S.**, Broennimann O., Febraro I., and Heeb P. (2003). Mol Ecol. 45: 282-290

⁴ Thys R.C.S., **Lucas F.S.**, Riffel A., Heeb P., and Brandelli A. (2004). Letters in Applied Microbiology 39: 181–186.

⁵ Riffel A., **Lucas F.**, Heeb P., and Brandelli A. (2003). Arch. Microbiol. 179: 258–265.

⁶ Luhering Giongo J., **Lucas F.S.**, Casarin F., et al. (2007). World J Microbiol Biotechnol. 23: 375-382.

⁷ **Lucas FS.**, Moureau B., Jourdie V., Heeb P. (2005). Mol. Ecol. 14: 639-646.

La densité de bactéries libres ou faiblement attachées aux plumes peut donc constituer un indicateur du temps passé par l'adulte aux soins corporels et mettre en évidence un compromis lorsque l'oiseau diminue ce temps au profit du nourrissage des jeunes. Par ailleurs ces résultats montrent que seuls les adultes ayant une portée initiale plus faible paient un coût engendré par un jeune supplémentaire dans la nichée. Ce résultat suggère que les parents de meilleure qualité seraient capables de supporter le coût lié à ce jeune supplémentaire sans diminuer le temps consacré au soin corporel (1).

Ces recherches sur les bactéries du cloaque et du plumage aviaire ont montré que les interactions animal-bactéries influencent à la fois la survie et le succès reproducteur des animaux mais aussi la structure, la densité et sans doute l'activité des bactéries. Nos résultats montrent aussi que cette relation n'est pas valable seulement pour les relations parasite-hôte qui sont le plus souvent étudiées, mais est aussi valable pour les relations de commensalisme et de mutualisme. En agissant sur la survie, la santé et le succès reproducteur des vertébrés, les microorganismes pathogènes, commensaux et mutualistes vont donc influencer les activités d'acquisition de la ressource par les vertébrés au sein du réseau trophique et par conséquent le fonctionnement de l'écosystème. Ces effets seront probablement particulièrement exacerbés dans un environnement urbain où les vertébrés doivent faire face à la dégradation de leur habitat. Une connaissance spécifique des interactions vertébrés-microorganismes pourrait être cruciale pour prédire la réponse des écosystèmes aux perturbations (changement du climat, pollutions, disparition de l'habitat). La gestion des espèces en danger est particulièrement concernée par ce genre de considération car les pathogènes peuvent affecter la taille de la population d'oiseaux.

II. Cascades trophiques en milieu lacustre

De nombreuses fonctions de l'écosystème, telle que la productivité primaire, dépendent de la quantité de ressources disponibles mais aussi des interactions trophiques, notamment la structure du réseau trophiques (nombre et types de niveaux trophiques). Prédire l'impact des interactions trophiques sur le fonctionnement des écosystèmes est compliqué. Des interactions directes et indirectes à l'intérieur et entre les niveaux trophiques altèrent souvent l'impact d'un groupe trophique sur un autre (1, 2). Toutefois, les interactions fortes entre des espèces peuvent entraîner des réponses trophiques claires et prédictibles (3). De telles interactions sont particulièrement bien documentées dans les lacs (e.g. 4, 5, 6), où des cascades trophiques liées aux poissons planctivores ont montré un contrôle du zooplancton qui à son tour influence la biomasse du phytoplancton (e.g. 7, 8, 9).

Ces études en milieu lacustre se limitent souvent aux consommateurs et producteurs primaires et ignorent la boucle microbienne (microorganismes hétérotrophes et autotrophes). Etant donné le rôle clef des microorganismes dans le fonctionnement des cycles biogéochimiques (10), il paraît crucial d'explorer les effets indirects que pourraient engendrer la perte de diversité au niveau des consommateurs eucaryotes sur l'activité et la composition des communautés bactériennes. L'existence de cascades trophiques au niveau des bactéries est souvent difficile à mettre en évidence car les effets de la prédation peuvent être atténués par des mécanismes tampons comme l'omnivorie, la redondance fonctionnelle et les mécanismes d'évitement de la prédation (11, 12). Ainsi les études précédentes portant sur les cascades des niveaux trophiques supérieurs jusqu'aux bactérioplancton ont donné des résultats contradictoires. La plupart du temps la prédation par le zooplancton affecte significativement l'abondance des protistes bactériovores, ainsi que l'activité, la morphologie et la diversité bactérienne (13, 14, 15). Par contre les effets indirects sur les abondances bactériennes sont rarement observés (16, 17, 18).

Savoir si la prédation exercée par le zooplancton sur les protistes est transférée par cascade trophique aux bactéries par bactériovorie ou par apport de matière organique constitue une question récurrente en écologie aquatique. En effet le mésozooplancton peut stimuler les activités bactériennes en libérant de la matière organique et des nutriments lors de la prédation sur les protistes et le phytoplancton (19). Par ailleurs Pace (20) a émis

¹ Abrams P.A., and Ginzburg L.R. (2000). *Trends in Ecology & Evolution* 15: 337-341.

² Polis G.A., and Strong D.R. (1996). *Am Nat.* 147: 813-846

³ Carpenter S.R., and Kitchell J.F. (1993). *The trophic cascade in lakes*. Cambridge University Press, Cambridge

⁴ Mazumder A., Taylor W.D., McQueen D.J., and Lean D.R.S. (1989). *Can J Fish Aquat Sci.* 46: 1735-1745

⁵ Sarnelle O. (1992). *Limnology and Oceanography* 37: 1527-1542.

⁶ Schindler D.E., Kitchell J.F., He X., et al. (1993). *Transactions of the American Fisheries Society* 122: 756-772

⁷ Leibold M.A. (1989). *Am Nat.* 134: 922-949

⁸ Brett M.T., and Goldman C.R. (1996). *Proc Natl Acad Sci. USA* 93: 7723-7726.

⁹ Jeppesen E., Sondergaard M., Sondergaard M., et al. (2002). *Archiv für Hydrobiologie* 153: 533-555.

¹⁰ Ward B.B. (1996). *Microb Ecol.* 32: 247.

¹¹ Strong D.R. (1992). *Ecology* 73: 747-754

¹² Persson L. (1999). *Oikos* 85: 385-397

¹³ Jurgens, K. (1994). *Marine Microbial Food Webs* 5: 27-37

¹⁴ Zöllner E., Santer B., Boersma M., et al. (2003). *Freshwater Biology* 48: 2174-2193.

¹⁵ Zöllner E., Hoppe H.G., and Sommer U.K.J. (2009). *Limnology and Oceanography* 54, 262-275.

¹⁶ Wickham S.A. (1998). *J Plankton Res.* 20: 739-755.

¹⁷ Calbet A., and Landry M.R. (1999). *Limnology and Oceanography* 44:1370-1380.

¹⁸ Sipura J., Lores E., and Snyder R.A. (2003). *Aquatic Microbial Ecology* 33: 181-190.

¹⁹ Møller E.F., Thor P., and Nielsen T.G. *Mar. Ecol.Prog. Ser.* 262: 185-191.

²⁰ Pace M.L. (1993). In: *The trophic cascade in lake ecosystems*. Carpenter S.R., and Kitchell J.F. (eds.). Cambridge., pp. 252-277.

l'hypothèse que les effets du zooplancton sur les bactéries passaient plutôt au travers du phytoplancton, source de matière organique pour les bactéries hétérotrophes (1). Enfin, il est possible que les interactions en cascade s'étendent des poissons aux bactéries parce que les communautés de zooplancton sont elles-mêmes fortement influencées par les niveaux trophiques supérieurs tels que les poissons planctivores (2, 3).

Depuis mon recrutement au Leesu en 2005, je me suis intéressée à cette question en testant si l'introduction ou la disparition d'une espèce de poisson planctivore pouvait impacter sur le long terme les communautés bactériennes de la colonne d'eau et ainsi se répercuter sur le fonctionnement de tout l'écosystème. Dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe de G. Lacroix (ENS, Paris), les densités de gardon (*Rutilus rutilus*) ont été manipulées en mésocosmes (40 m³) et les effets sur la densité, l'activité enzymatique et la diversité des communautés bactériennes ont été mesurés au printemps dans l'eau, les sédiments, et les biofilms. La manipulation des densités de gardon et l'eutrophisation des mésocosmes par ajout de nutriments ont généré deux réseaux trophiques contrastés avec des effets de cascade forts pendant deux années. Ce travail a permis l'encadrement de deux stagiaires (C. Guillon et D. Antonnucci) et d'une ATER (N. Nguyen-Deroche). Un article est en cours de rédaction.

L'originalité de cette étude repose d'une part sur le fait de tester l'impact des consommateurs supérieurs sur les bactéries, et ceci pas seulement dans la colonne d'eau mais aussi dans les autres compartiments de l'écosystème. D'autre part cette étude a permis de vérifier à long terme si une atténuation de la cascade trophique a lieu comme il est généralement prédit (4). En effet la persistance des effets de cascades trophique est peu connue (5) car la plupart des études sont généralement conduites à court terme (6).

Nos résultats ont montré que les changements de structure du réseau trophique planctonique peuvent avoir des effets persistants (deux ans d'expérience) sur les bactéries hétérotrophes et ainsi modifier la décomposition de la matière organique dans tout l'écosystème. La richesse (nombre de phylotypes) et la structure de la communauté bactérienne a été analysée par profils dHPLC du gène de l'ARNr 16S (Chromatographie liquide haute performance dénaturante). En présence de gardon, la richesse (ANOVA, $F_{1,7}=92.18$, $p>0.001$) et les activités β -glucosidase et amino-peptidase (ANOVA, $F_{1,7}=15.75$, $p=0.07$, et $F_{1,7}=11.05$, $p=0.016$ respectivement) étaient significativement plus faibles dans la colonne d'eau, par contre la manipulation de la structure du réseau trophique avait peu modifié l'abondance du bacterioplancton après 2 ans d'expérimentation (Tableau 2). La similarité des communautés bactériennes était corrélée avec le type de réseau trophique (Test de Mantel, $n=8$, $r=0.39$, $p=0.044$). L'analyse phylogénétique d'une collection de clones de fragments d'ADNr 16S sur deux enceintes est venue appuyer les résultats de la dHPLC tout en permettant l'identification des taxons majeurs présents dans les 3 compartiments. De tels changements dans la composition, les traits phénotypiques et l'activité physiologique des communautés bactériennes en réponse à la manipulation d'un prédateur sans changements de la biomasse bactérienne semble être une réponse assez commune dans les écosystèmes d'eau douce et marins. Plusieurs études manipulant la densité et la composition du zooplancton ont observé des effets significatifs sur différentes variables bactériennes telles que la morphologie et le biovolume des cellules bactériennes, les activités enzymatiques et la composition de la communauté (7, 8, 9, 1). Les changements de

¹ Cole J.J., Findlay S., and Pace M.L. (1988). *Mar Ecol Prog Ser.* 43: 1-10.

² Verity P.G. and Metacek V.S. (1996). *Mar Ecol Prog Ser.* 130: 277-293.

³ Pauly D., Christensen V., Dalsgaard J., et al. (1998). *Science* 279: 860-863

⁴ Abrams P.A., Ginzburg L.R. (2000). *Trends in Ecology & Evolution* 15: 337-341

⁵ Tessier, A. J., and Woodruff P. (2002). *Ecol Lett.* 5: 685-692.

⁶ Pace M.L., and Cole J.J. (1994). *Microb. Ecol.* 28: 181-193.

⁷ Jurgens K. (1994). *Marine Microbial Food Webs* 5: 27-37

⁸ Lehman R.M., and O'Connell S.P. (2002). *Applied and Environmental Microbiology* 68: 1569-1575.

⁹ Zöllner E., Santer B., Boersma M., et al. (2003). *Freshwater Biology* 48: 2174-2193.

changements de la communauté bactérienne dans nos mésocosmes ont pu avoir lieu au travers d'une combinaison de facteurs variés telles que la quantité et qualité des nutriments et de la matière organique, ainsi que des modifications des taux de prédation et la sélection d'espèces bactériennes plus productives. En absence de poisson planctivore, le zooplancton a été dominé par de grand cladocères qui sont des herbivores efficaces, réduisant ainsi significativement la quantité de phytoplancton, alors qu'en présence de poisson le zooplancton était dominé par des calanoïdes et petits cladocères qui sont des herbivores peu efficaces (2).

Ces effets en cascades se sont également répercutés sur les communautés bactériennes benthiques, mais ont eu peu ou pas d'effet sur les biofilms bactériens après deux ans d'expérimentation (Tableau 2). Les densités, les activités enzymatiques et la richesse des communautés bactériennes du sédiment différaient significativement entre les enceintes avec et sans gardons (ANOVA, $F_{1,7}=6.70$, $p=0.041$; $F_{1,7}=15.12$, $p=0.003$; $F_{1,7}=11.05$, $p=0.016$; $F_{1,7}=6.56$, $p=0.043$ respectivement). Cependant les profils dHPLC ne montrait pas de relation significative avec la manipulation des prédateurs. Les activités et la richesse bactériennes plus élevées dans les enceintes avec gardons pouvaient être expliquées par la différence de qualité et de quantité de la matière organique, puisque les concentrations en protéines et sucres étaient deux fois plus élevées dans les sédiments des enceintes avec gardons (1) Dans ces enceintes dominées par les planctivores, les taux de sédimentation étaient plus élevés et la matière organique sédimentée étaient caractérisée par des marqueurs lipidiques caractéristiques du phytoplancton (1). Le zooplancton peut agir indirectement sur les processus de sédimentation en modifiant la composition et la densité des espèces algales (3) ou directement en produisant des fécès et des corps en décomposition (e.g. 4). Concernant les biofilms, des effets des réseaux trophiques pélagiques sont supposés avoir lieu via le contrôle des consommateurs de biofilm et via la compétition pour les nutriments et la lumière entre le phytoplancton et le périphyton (5, 6). Bien que la manipulation des prédateurs dans notre expérience ait altéré plusieurs facteurs physiques, chimiques et biologiques, nous n'avons pas observé d'effets significatifs sur les communautés bactériennes des biofilms.

Tableau 2. Impact des gardons sur les abondances bactériennes (cellules par ml), les activités spécifiques beta-glucosidase et amino-peptidase (fmol/cell/h), et richesse dans l'eau, les sédiments et les biofilms (n=8). La richesse est le nombre de pics dans les profils dHPLC d'ARNr 16S.

échantillon	gardons	Densités	glucosidase	Peptidase	richesse
Eau	présence	$1.44 \pm 0.51 \times 10^6$	0.04 ± 0.02	1.05 ± 0.34	10 ± 1
Eau	absence	$0.94 \pm 0.39 \times 10^6$	0.87 ± 1.04	4.34 ± 1.76	17 ± 1
sédiment	présence	$1.98 \pm 0.61 \times 10^{10}$	0.82 ± 0.35	1.17 ± 1.10	12 ± 3
sédiment	absence	$1.22 \pm 0.22 \times 10^{10}$	7.25 ± 3.79	7.90 ± 4.38	16 ± 2
Biofilm	présence	$9.99 \pm 4.11 \times 10^7$	0.15 ± 0.09	1.27 ± 0.47	17 ± 1
Biofilm	absence	$9.11 \pm 4.26 \times 10^7$	0.13 ± 0.09	1.39 ± 1.23	15 ± 4

¹ Zöllner E., Hoppe H.-G., and Sommer U.K.J. (2009). *Limnology and Oceanography* 54: 262-275.

² Danger M. (2007). Des interactions entre organismes au fonctionnement des écosystèmes : apports des approches stoechiométriques. Thèse, Ecole Normale Supérieure, Paris .

³ Larocque I., Mazumder A., Proulx M. et al. (1996). *Can Fish Aquat Sci.* 53: 1133-1142

⁴ Uehlinger U., and Bloesch J. (1987). *Int Revue ges Hydrobiol.* 72: 473-486

⁵ Mazumder A., Taylor W.D., and McQueen D.J. (1989). *Freshwater Biology* 22: 405-415.

⁶ McCollum E.W., Crowder L.B., and McCollum S.A. (1998). *Ecology* 79: 1980-1994.

Nos résultats ont donc montré qu'une modification des prédateurs peut avoir des effets notables au niveau des communautés bactériennes, tant sur leur activité que sur leur composition. La structure du réseau trophique a eu clairement un effet sur le recyclage de la matière organique (activités enzymatiques microbiennes) et donc sur le fonctionnement global des mésocosmes à la fois dans la colonne d'eau et dans les sédiments. A noter que pendant les deux années, les effets sont restés forts, par contre il est probable qu'un comportement cyclique des différentes relations proie-prédateur ait eu lieu. En effet Danger et al. (1) ont montré que les densités de phytoplancton et de zooplancton variaient en fonction de la saison. Nos résultats apportent un nouvel aspect dans le débat sur l'impact de la diversité sur le fonctionnement des écosystèmes, en montrant que les activités bactériennes telles que le recyclage de la matière organique sont fortement influencées par la dynamique des niveaux trophiques supérieurs. Si on replace ces résultats dans un contexte de lac urbain tel que le lac de Créteil où ont eu lieu ces expériences, on peut se demander quels seraient les effets sur la structure du réseau trophique des polluants tels que les perturbateurs endocriniens qui peuvent affecter les traits de vie des vertébrés.

III. Bilan et perspectives de recherche

Bilan de mes recherches sur les facteurs affectant la diversité bactérienne dans les réseaux trophiques:

Laboratoires	IEE, UNIL, Suisse Leesu, UPEC, France
Acteurs	P. Heeb (IEE, UNIL, Suisse), J. Soler (CSIC, Almeria, Espagne) G. Lacroix (Bioemco, ENS, Paris), N. Nguyen-Deroche (Leesu, UPEC)
Etudiants	B. Moureau (PhD, DEE, Lausanne), M. Ruis-Rodriguez (PhD, CICT, Almeria) M. Danger (PhD, Bioemco, ENS, Paris) 3 étudiants en travaux de module (DEE, UNIL, Suisse) 1 étudiante en stage de licence 2 (Univ. Paris Sud) 1 étudiante en stage ingénieur (Ecole des Ponts ParisTech)
Financements	2000- 2004 : Fonds de la fondation Sandoz attribué à P. Heeb 2005- : programme attribué à G. Lacroix
Publications	Lucas et al. (2004), Thys et al. (2004), Lucas et Heeb (2005), Riffel et al. (2005), Luango et al (2007), Ruis-Rodriguez et al. (2009a) et Ruis-Rodriguez et al. (2009b)

Dans les prochaines années je souhaite continuer cette thématique en étudiant l'effet des perturbations multiples sur la diversité au sein des réseaux trophiques. Ce développement prendrait en compte l'effet des changements globaux notamment des modifications du bassin versant (usage du sol, polluants chimiques, modification du climat). Ainsi je vais participer au projet PULSE qui vient d'être accepté par l'ANR. Ce projet porté par G. Lacroix (Bioemco, ENS) a pour but d'étudier l'effet des changements globaux et forçages anthropiques sur la qualité des plans d'eau urbains et péri-urbains, en caractérisant les écosystèmes aquatiques (suivi annuel de 50 lacs en Ile de France et suivi mensuel du lac de Créteil) d'un point de vue physique, réseau trophique (poissons, zooplancton, protozoaires, microalgues et bactéries), et qualité sanitaire (polluants organiques, cyanobactéries et indicateurs de contamination fécale). A l'issue de cette étude des outils d'aide à la décision seront proposés pour offrir des stratégies d'adaptation et de gestion pour

¹ Danger M., Leflaive J., Oumarou C., Ten-Hage L., Lacroix G., 2007. Oikos 116 : 1079-1086

réduire l'impact des changements planétaires sur la qualité des lacs et leurs services. Outre son intérêt scientifique et opérationnel, ce projet de 4 ans est fédérateur pour le Leesu, puisqu'il rassemble des chimistes, des hydrologues, un sociologue et moi-même. De plus, il constitue un projet structurant pour l'étude des lacs en Ile de France, puisqu'il rassemble des chercheurs du Leesu, de l'UMR Bioemco (ENS, Agro ParisTech, IRD), l'UMR FRE 3206 MCAM (Muséum National d'Histoire Naturelle, Université Paris Diderot), l'UMR 8079-Ecologie, Systématique et Evolution (Univ. Paris 11), l'Institut Jean le Rond d'Alembert (Université Paris VI), CEREAP (ENS), et l'UMR Geolab de Limoges.

A plus long terme j'aimerais développer des approches expérimentales en microcosmes et mésocosmes, sur les effets indirects des perturbations multiples au sein des réseaux trophiques, en se focalisant sur les microorganismes. Un nombre croissant d'évidences suggère que les effets indirects des polluants sont plus communs et plus complexes que les effets directs (1, 2, 3). Ainsi les effets des contaminants peuvent se propager au travers du réseau trophique entre les populations en induisant une mortalité et/ou des changements de traits de vie, entraînant des modifications comportementales, démographiques ou morphologiques. Ces modifications affectant un niveau trophique peuvent se répercuter sur les autres niveaux via les chaînes d'interactions entre les espèces (2). Il est donc difficile de prédire les interactions indirectes dues aux contaminants sans une bonne compréhension des interactions fonctionnelles entre les populations dans les réseaux trophiques (3). Peu d'études considèrent les conséquences relatives des effets indirects de perturbateurs multiples bien que les contaminants soient rarement uniques dans le milieu naturel (4). Toutefois, une série de papiers suggèrent que les insecticides augmentent les effets de l'eutrophisation en réduisant le contrôle descendant sur le périphyton par les invertébrés (5, 6, 7). L'impact des perturbateurs multiples est difficile à prédire au niveau de la communauté car les effets indirects et les perturbations multiples peuvent produire des effets non additifs (synergiques ou opposés) (8). Une compréhension des interactions entre les espèces au sein du réseau trophique est donc essentielle pour interpréter les changements de populations ou de communautés observables dans les sites contaminés. Par ailleurs les polluants peuvent constituer des outils pour comprendre les relations écologiques. Les résultats qui seront obtenus permettront de mieux comprendre et prédire l'impact des perturbations anthropiques multiples sur les écosystèmes aquatiques en se servant de l'écologie des communautés et de l'écologie des écosystèmes. Bien que les écotoxicologues soient conscients de l'importance potentielle des effets indirects des contaminants, ces effets ont rarement été pris en compte dans l'évaluation des risques écologiques. Il en résulte que les décisions et études en toxicologie sont largement basées sur des tests individuels qui ne peuvent pas détecter les effets indirects ni les effets au niveau communauté.

Comprendre les implications écologiques des contaminants de l'environnement devrait permettre d'aider au développement de stratégies de gestion en vue de la préservation et de la restauration des habitats naturels (2). Cet enjeu est désormais mis en lumière par la réglementation européenne (Directive 2000/60/CE du 23 octobre 2000) qui impose le maintien ou la restauration des écosystèmes aquatiques. Il devient donc nécessaire de développer des méthodologies permettant non seulement de qualifier la qualité biologique des milieux récepteurs, mais également de caractériser les causes des dégradations constatées. Les polluants chimiques ont des origines ponctuelles (station d'épuration, systèmes d'assainissement) qui sont des causes reconnues de perturbations biologiques, non seulement trophiques, mais aussi toxiques (9, 1). Mais il existe aussi de nombreuses

¹ Clements W., and Newman M.C. (2002). Community Ecotoxicology. John Wiley & Sons, Chichester, UK

² Fleeger J.W., Carman K.R., and Nisbet R.M. (2003). *Sci Total Environ.* 317: 207-233.

³ Rohr J.R., Kerby J.L., and Sih A. (2006). *Trends in Ecology and Evolution* 21: 606-613.

⁴ Cuppen J.G.M., Crum S.J.H., van den Heuvel H., et al. (2002). *Ecotoxicology* 11: 165-180.

⁵ Vandonk E., Prins H., Voogd H.M. et al. (1995). *Archiv Hydrobiol.* 133: 417-439

⁶ Brock T.C.M., Roijackers R.M.M., Rollon R., et al. (1995). *Arch Hydrobiol.* 134: 53-74.

⁷ Gylstra J.G.M., Van Beusekom R., Budde S., et al. (1995). *Arch Hydrobiol.* **134**: 157-177.

⁸ Vinebrooke R.D., Cottingham K.L., Norberg J., et al. (2004). *Oikos* 104: 451-7

⁹ Purdom C.E., Hardiman P.A., Bye V.J., et al. (1994). *Chem Ecol.* 8: 275-285

sources diffuses (ruissellement urbain, agricole, déposition atmosphérique) qui sont plus difficiles à identifier. Du fait des progrès des techniques analytiques, de nouvelles substances métalliques et organiques (HAPs, phénols-chlorophénol, alkylphénol, phtalates, solvants, pesticides, hormones, détergents, médicaments, autres substances de soins corporels) sont désormais mises en évidence dans le milieu naturel où elles sont actives biologiquement (2, 3, 4). La mise en œuvre de recherche en écotoxicologie dans le cadre de l'écologie des écosystèmes telle que je l'envisage requiert donc une approche interdisciplinaire qui suppose des collaborations scientifiques avec des collègues chimistes de l'environnement et des écologues, mais aussi avec des gestionnaires des milieux aquatiques et des systèmes d'assainissement.

¹ Jobling S., Nolan M., Tyler C.R., et al. (1998). *Environ Sci Technol.* 32: 2498-2506.

² Ternes T.A. (1998). *Water Res.* 32: 3245-3260.

³ Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T., et al. (2002). *Environ Sci Technol.* 36(6): 1202-1211.

⁴ Togola A., Budzinski H. (2008). *Journal of Chromatography A* 1177: 150–158.

DIVERSITE MICROBIENNE ET GESTION DES EAUX URBAINES

La qualité microbiologique et chimique des eaux constitue un enjeu considérable pour la production d'eau potable, l'irrigation, les activités de récréation et pour la santé des écosystèmes aquatiques (1). La problématique écosystémique prend d'ailleurs une envergure accrue depuis la mise en application de la Directive Cadre Européenne sur l'eau (Directive 2000/60/CE du 23 octobre 2000) qui vise pour 2015 au « bon état biologique et chimique » des eaux souterraines et superficielles en Europe. Les problèmes de santé publique liés à la qualité et aux usages multiples de l'eau dans les bassins versants (réserves d'eau potable, récréation, pêche, baignade) soulèvent le besoin d'identifier les pollutions et leurs sources (2). Dans les bassins versants anthropisés, les rejets d'eaux usées domestiques constituent avec les rejets urbains de temps de pluie (RUTP) les sources principales de contamination fécale et chimique du milieu naturel (3, 4).

La gestion des eaux pluviales et usées implique une diversité de systèmes de traitement et stockage mis en œuvre à des échelles spatiales diverses, allant de la région au particulier. Différents systèmes conventionnels et alternatifs sont mis en œuvre pour la gestion des eaux dans le but d'améliorer leur qualité chimique, physique et biologique, de réguler les débits, et d'assurer l'approvisionnement en eau (5). L'approche conventionnelle est basée sur le concept « tout tuyaux » (6), et consiste en un convoyage des eaux usées et pluviales par des réseaux de conduites vers des usines de traitement centralisées et distantes et un drainage des eaux de pluie à partir de points de collecte vers des déversoirs localisés (par exemple la station d'épuration de Seine-Centre traite 240 000 m³ d'eau/jour et jusqu'à trois fois plus par temps d'orage). Dans le cas des systèmes alternatifs, la gestion de l'eau implique un contrôle de l'eau à l'amont comme à l'aval du bassin versant, les eaux usées et pluviales sont considérées comme des ressources, les infrastructures mises en places sont multiples, de petites tailles, décentralisées et adaptées aux besoins spécifiques des utilisateurs, enfin les capacités naturelles des zones humides, des sols et de la végétation à absorber et traiter l'eau sont exploitées (7). Par exemple les cuves de récupération d'eau pluviale chez les particuliers ou les séparateurs à graisse chez les restaurateurs constituent des systèmes de petite taille et décentralisés permettant une gestion à l'amont des ressources et des pollutions. Les systèmes conventionnels et alternatifs bien que basés sur une philosophie différente sont utilisés de manière complémentaire en vue d'une gestion durable de l'eau dans les milieux urbains (7). Malgré les avancées technologiques dans le domaine de la gestion des eaux usées et des eaux pluviales, les pathogènes hydriques restent une des menaces environnementales majeures pour la santé humaine (3). La qualité microbiologique de l'eau pluviale et des eaux traitées est d'autant plus cruciale que ces eaux sont de plus en plus considérées comme une ressource potentielle. Si un arrêté relatif à l'utilisation des eaux résiduaires urbaines issues du traitement d'épuration pour l'irrigation et l'arrosage vient tout juste de sortir (Arrêté du 2 août 2010), aucune législation n'est prévue pour les eaux de ruissellement collectées par les particuliers ou les collectivités (toiture ou chaussées).

Il existe de nombreux liens entre l'écologie microbienne et la gestion de l'eau. En effet la complémentarité de l'écologie microbienne et de la biotechnologie environnementale est évidente même si les motivations des écologistes et celles des ingénieurs sont différentes

¹ Mazari-Hiriart M., Ponce-de-León S., López-Vidal Y., et al. (2008) PLoS ONE 3(5): e2305.

² Meays C.L., Broersma K., Nordin R.N., and Mazumder A. (2004). Journal of Environmental Management 73: 71-79.

³ Lee D.Y., Shannon K., and Beaudette L.A. (2006). Journal of Microbiological Methods 65: 453-467

⁴ Krometis L.A.H., Characklis G.W., Simmons III O.D., et al. (2007). Water Research 41: 506-516

⁵ Shuping L., Siuqing L., Chocat B., Barraud S. (2006). Environmental Informatics Archives 4: 116-128

⁶ Chocat B. (2002). Sustainable management of water in Cities. Challenges of the new water policies for XXI Century, Universidad International Menendez Pelayo-Valencia (Spain), 29-31, October, 2002, 21 p.

⁷ Shuping L., Siuqing L., Chocat B., and Barraud S. (2006). Environmental Informatics Archives 4: 116-128

(1). La biotechnologie environnementale utilisées dans les stations de traitement (biofiltration, boues activées, lagunage, lit bactérien) revient à gérer et utiliser des communautés microbiennes pour enlever les polluants organiques et métalliques. La gestion de l'eau implique aussi la détection et l'élimination des microorganismes pathogènes pour protéger la santé publique. L'écologie microbienne procure les fondements et les outils nécessaires pour concevoir et gérer les systèmes biotechnologiques et pour surveiller et éliminer les pathogènes. Par ailleurs, les stations d'épuration et les bioréacteurs constituent des modèles intéressants pour tester des questions d'écologie fondamentale, avec des approches novatrices. En effet, les bioréacteurs peuvent être considérés comme des écosystèmes plus simples, mieux contrôlés et définis sur le plan physique et chimique que les environnements naturels (1).

Cependant il existe encore de nombreuses lacunes à la fois dans la compréhension du fonctionnement des biotechnologies environnementales et dans l'efficacité des processus de traitements vis-à-vis des microorganismes pathogènes. Les processus d'épuration ont été surtout conçus pour éliminer les matières en suspension, les pollutions azotées, phosphorées et carbonées et de ce fait on connaît mal leur impact sur les densités et la diversité des microorganismes des eaux usées et pluviales et par conséquent leur capacité à éliminer les pathogènes. Par ailleurs, les processus biotechnologiques qui reposent sur des communautés microbiennes sont largement utilisés. Cependant les connaissances sur ces assemblages sont souvent limitées, l'empirisme permettant une relativement bonne maîtrise de ces procédés (2). Même si les techniques moléculaires ont beaucoup amélioré notre connaissance des microorganismes utilisés pour le traitement des eaux usées, ces communautés restent encore des boîtes noires. De nombreuses questions se posent sur la diversité, le fonctionnement écologique et l'assemblage de ces communautés écologiques, et sur les conditions environnementales qui permettent l'auto-assemblage de ces communautés et la sélection et le maintien de la fonction d'épuration recherchée, sur la prédictibilité et la reproductibilité de ces assemblages. L'écologie générale a développé des théories élaborées sur les successions écologiques, la diversité, l'invasion et la stabilité, telle que l'hypothèse qu'un écosystème diversifié est plus stable (3). La plupart de ces théories peinent à pénétrer l'écologie microbienne, cependant une application correcte des concepts théoriques pourrait procurer un cadre intellectuel puissant pour poser les questions cruciales sur les processus biotechnologiques de dépollution et choisir les bons outils expérimentaux et méthodologiques pour y répondre.

Dans ce contexte, mes activités de recherche au Leesu ont pour but d'identifier les sources potentielles de divers indicateurs de contamination fécale et microorganismes pathogènes (tels que les mycobactéries non-tuberculeuses) et d'améliorer le fonctionnement des systèmes de traitement des eaux usées et pluviales en décrivant l'impact des systèmes de gestion de l'eau sur les densités et la diversité bactérienne dans les eaux de surface, les eaux usées et les eaux pluviales. Ma recherche porte donc sur l'évaluation de la qualité microbiologique en station d'épuration et en station de dépollution des eaux pluviales, et dans les cuves de récupération d'eau de pluie. Par ailleurs, je développe aussi une recherche sur l'utilité des concepts d'écologie (relation diversité-fonction, relation diversité-invasion, concept de niche de communauté) pour prédire le fonctionnement des assemblages bactériens dans les cuves de stockage de l'eau de pluie et dans les séparateurs à graisse. Ces recherches ont pour but d'améliorer le fonctionnement des processus biologiques de dépollution des eaux usées en conditions fluctuantes et d'améliorer les pratiques d'entretien des cuves de stockage des eaux de pluie. J'aborde ces objectifs en apportant les connaissances et outils de l'écologie microbienne à la gestion des eaux et à la biotechnologie environnementale, en réponse aux demandes des gestionnaires (SIAAP, agence de l'eau Seine Normandie, Conseil Général du Val de Marne). Ainsi se met

¹ Daims H., Taylor MW., and Wagner M; (2006). Trends in Biotechnology 24: 483-489

² Rittman BE. (2006). Trends in Biotechnology 24: 261-266

³ Loreau M., Naeem S., Inchausti P. et al. (2001). Science 294: 804-808.

en place un aller-retour entre recherche et impératifs de gestion, par exemple en développant de nouvelles techniques de détection des mycobactéries non-tuberculeuses dans les eaux de surface pour répondre au questionnement des gestionnaires et pour leur proposer une recherche appliquée prospective. En retour, les demandes des gestionnaires m'ouvrent de nouvelles perspectives de recherche avec des modèles biologiques qui sortent des sentiers battus. Ainsi les séparateurs à graisse et les cuves de récupération des eaux de pluie constituent pour moi deux écosystèmes modèles pour tester les théories développées en écologie sur les liens entre la biodiversité et la stabilité des écosystèmes (maintien des fonctions écosystémiques et résistance aux invasions). Une des finalités de cette recherche est donc de contribuer à l'intégration de l'écologie microbienne et de la technologie environnementale en vue d'améliorer la gestion de l'eau.

IV. Efficacité des séparateurs à graisse biologiques

Les séparateurs à graisse (SAG) sont des systèmes de traitement utilisés chez les restaurateurs pour prétraiter leurs eaux grises (eaux de cuisine, de vaisselle, de lavage des sols et des mains) en assurant la rétention d'une partie des graisses avant rejet à l'égout. Cette rétention peut être réalisée par simple flottation (SAG classiques) ou s'accompagner d'une dégradation biologique par ajout de biomasses microbiennes commerciales (SAG biologiques). Le vif intérêt pour les SAG biologiques réside dans la limitation des nuisances générées par la vidange des SAG classiques. Toutefois, il apparaît que les SAG biologiques n'ont qu'un faible rendement lié à l'inadaptation des techniques de traitements (1, 2).

Dans la plupart des bioréacteurs, des charges faibles couplées à des temps de résidence longs sont utilisés pour éviter l'échec du traitement (3). Or la fréquence et l'importance des rejets graisseux dans les restaurants et les mauvais dimensionnements des SAG ne permettent pas des temps de résidence longs, d'où un rendement généralement faible des séparateurs à graisses aux heures correspondant aux pointes de débit (1). De plus la composition des effluents et les conditions environnementales fluctuent énormément au sein d'un SAG, les températures pouvant varier entre 16 et 73°C et les pH entre 4 et 12 (4). Ces perturbations ont des répercussions énormes sur les performances physiologiques et la stabilité de l'assemblage microbien utilisé (3). Assembler et maintenir une communauté microbienne artificielle en bioréacteur pour le traitement des eaux usées revient à gérer un écosystème. Malheureusement les concepts d'écologie sont rarement pris en compte dans ce type de technologie, ce qui explique l'échec fréquent des biomasses commerciales (5).

Pour traiter ce type d'effluent, il est donc nécessaire d'une part de ralentir les débits et d'augmenter les temps de séjour et d'autre part d'optimiser les communautés microbiennes utilisées afin qu'elles soient robustes aux fluctuations des conditions physico-chimiques. Pour cela des notions clefs telles que la diversité, la composition et les interactions biologiques au sein de la communauté microbienne doivent être prises en compte. L'application des théories développées en écologie sur les liens existant entre la diversité et la stabilité et la performance des fonctions écologiques tels que la dégradation de la matière organique (6) pourrait permettre d'améliorer le fonctionnement des SAG.

Le transfert de ces connaissances acquises sur le fonctionnement des écosystèmes constitue pour l'instant une approche encore peu appliquée à la biotechnologie mais qui pourrait permettre de développer un cadre conceptuel pour l'optimisation et la prédiction du fonctionnement des bioréacteurs (7). Ainsi les concepts d'écologie, tels que les liens entre diversité et fonctionnement de l'écosystème, pourraient être utilisés pour créer une communauté bactérienne capable de dégrader les graisses dans les SAG installés chez les restaurateurs, et ceci en vue de limiter les rejets de graisse dans les réseaux de collecte des eaux usées et ainsi de protéger les installations des stations d'épuration et le milieu récepteur. Dans le but de développer une méthodologie d'assemblage de communautés capables de maintenir leur capacité de dégradation des graisses dans un environnement fluctuant et contraignant tel qu'un SAG, nous avons testé l'utilité du concept de niche de communauté pour prédire le rôle de la diversité bactérienne sur le maintien de l'activité

¹ Lachaize E. (2005). Dynamique des graisses en réseau d'assainissement. Etat de l'art sur les connaissances, DEA Sciences et techniques de l'environnement, Université Paris XII – Val-de-Marne, 76 pp.

² Gabarda-Oliva D. (2001). Les systèmes de prétraitement par ajout de bactéries spécifiques. Colloque Pollutec sur les "déchets graisseux : quelles solutions et quels coûts?", Paris (Fr.): 8 pp.

³ Fernandez A.S., Hashsham S.A., Dollhopf S.L., et al. (2000). *Appl Environ Microbiol.* 66: 4058-4067.

⁴ Paul-Dauphin S. (2007). Efficacité des séparateurs à graisses dans la restauration à Paris. Master Sciences et Génie de l'Environnement – Systèmes Aquatiques et Gestion de l'Eau, Université Paris XII – Val-de-Marne, 42 pp.

⁵ Roberts M.S., Garland J.L., and Mills A.L. (2004). *Microbial Ecology* 47: 137-149

⁶ Loreau M., Naeem S., Inchausti P. et al. (2001). *Science* 294: 804-808.

⁷ McMahan K.D., Garcia Martin H., and Hugenholtz P. (2007). *Current Opinion in Biotechnology* 18: 287-292

lipasique en présence de perturbations multiples (chocs thermiques et détergent). Cependant il existe actuellement de nombreuses limitations à l'application directe des théories écologiques aux biotechnologies qui requièrent l'acquisition de connaissances supplémentaires sur le fonctionnement des communautés bactériennes dans les SAG et sur l'adéquation des théories écologiques aux microorganismes.

Afin de mettre en place cette étude nous avons donc d'abord étudié la diversité microbienne présente dans un SAG classique, puis nous avons constitué une collection de 172 souches bactériennes se développant sur des substrats gras. Cette collection a servi à tester le rôle de la diversité bactérienne face aux perturbations et à calculer l'indice de communauté. Ce projet de recherche financé par la Ville de Paris a été effectué en collaboration avec L. Moulin (DRDQE, Eau de Paris), R. Moillon (Leesu, Université Paris-Est) et avec X. Le Roux (Fédération de la Recherche sur la Biodiversité, Paris), Une doctorante (A. Sonthonnax), une post-doctorante (Y. Adolfe), plusieurs stagiaires M2 (A. Slimani, A. VandeVoorde, Q. Baranthon) et un étudiant M1 embauché comme technicien (M. Ouhahes) ont participé à ce projet.

IV.1 Composition des communautés microbiennes d'un SAG

Malgré l'importance des microorganismes lipolytiques dans le recyclage de la matière organique au sein des écosystèmes aquatiques (1) et leur utilité en biotechnologie pour la dégradation des graisses (2), leur diversité et leur répartition spatio-temporelle reste largement inconnues à la fois dans les écosystèmes naturels et dans les bioréacteurs. Depuis quelques décennies, les méthodes moléculaires ont grandement amélioré la compréhension des microorganismes clés qui catalysent le traitement des eaux usées (Daims et al 2006). Avant l'usage de ces outils moléculaires, les microorganismes impliqués dans les processus de dépollution étaient inconnus, et parfois certaines espèces bactériennes cultivables étaient considérées à tort comme importantes. Ainsi, l'étude d'Hatamoto et al. (3) a révélé que la majorité des bactéries dégradant les acides gras à longue chaîne dans les digesteurs anaérobies appartient à des taxons non-cultivés. Cependant, peu d'études ont été menées sur la diversité et la structure des communautés microbiennes dégradant les graisses en bioréacteur à l'aide des outils moléculaires. En particulier les SAG ont reçu peu d'attention. Nous avons donc étudié la diversité bactérienne présente dans le chapeau gras d'un SAG de restauration collective de Paris en début et fin de semaine, en clonant et séquençant le gène de l'ARNr 16S.

Notre collection de clones a montré une faible diversité bactérienne dans le chapeau gras (environ 70 taxons estimés par courbe de raréfaction). La collection était essentiellement composée de bactéries anaérobies, et de quelques espèces aéro-anaérobies facultatives et microaérophiles, avec une dominance des genres *Selenomonas*, *Prevotella* et *Lactobacillus* (Figure 7). Il est difficile de dire si ces espèces bactériennes sont capables de dégrader les graisses, cependant certains des genres identifiés sont capables d'oxyder la matière organique par fermentation (e.g. *Lactobacillus*, *Clostridium*) ou par respiration anaérobie (*Selenomonas*, *Desulfovibrio*). Cette diversité limitée n'est pas surprenante car les organismes qui colonisent le chapeau gras proviennent sûrement des eaux grises qui alimentent le SAG. De fait le SAG peut être comparé à une île dont la diversité dépendrait essentiellement des taux d'immigration et d'extinction des espèces, et de la taille du SAG (4, 5). Du fait du fonctionnement et de l'alimentation en eaux grises du SAG, les conditions physico-chimiques (pH et température) sont fluctuantes, et les

¹ Mudryk Z., and Skórczewski P. (2000). Estuarin, Coastal and Shelf Science 51: 763-772

² Brooksbank A.M., Latchford J.W., and Mudge S.M. (2007). World J Microbiol Biotechnol. 23: 977-985

³ Hatamoto M., Imachi H., Ohashi A., Harada H. (2007). Appl Environ Microbiol. 73: 1332-1340

⁴ MacArthur R., and Wilson, E. (1967). The Theory of Island Biogeography, Princeton University Press

⁵ Van der Gast C.J., Lilley A.K., Ager D., and Thompson I.P. (2005). Environmental Microbiology 7: 1220-1226

détergents et acides gras pouvant être toxiques sont en concentration élevée. Ces conditions contraignantes limitent certainement la diversité de la communauté bactérienne.

Globalement la communauté bactérienne semblait relativement similaires (73 %) entre le début et la fin de la semaine. Cependant la fréquence des Protéobactéries augmentait de 20 à 28 %, alors que la fréquence des Firmicutes diminuait de 57 % à 28 % entre le début et la fin de la semaine (Figure 7). Des conditions stables n'existent jamais réellement dans les procédés d'ingénierie et les communautés peuvent rapidement diverger dans les bioréacteurs (1). Cette nature dynamique des communautés microbiennes a des implications nombreuses pour la technologie environnementale. Elle remet en question le concept de communauté « stable » et les aprioris sur les causes purement physico-chimiques des fluctuations des procédés au sein des bioréacteurs (2, 3). En effet les bactéries sont des organismes vivants, et leur exploitation technologique demande à prendre en compte des concepts écologiques qui intègrent non seulement l'identité des espèces présentes mais aussi les interactions biologiques (compétition, mutualisme, prédation) et les compromis auxquels les espèces doivent faire face.

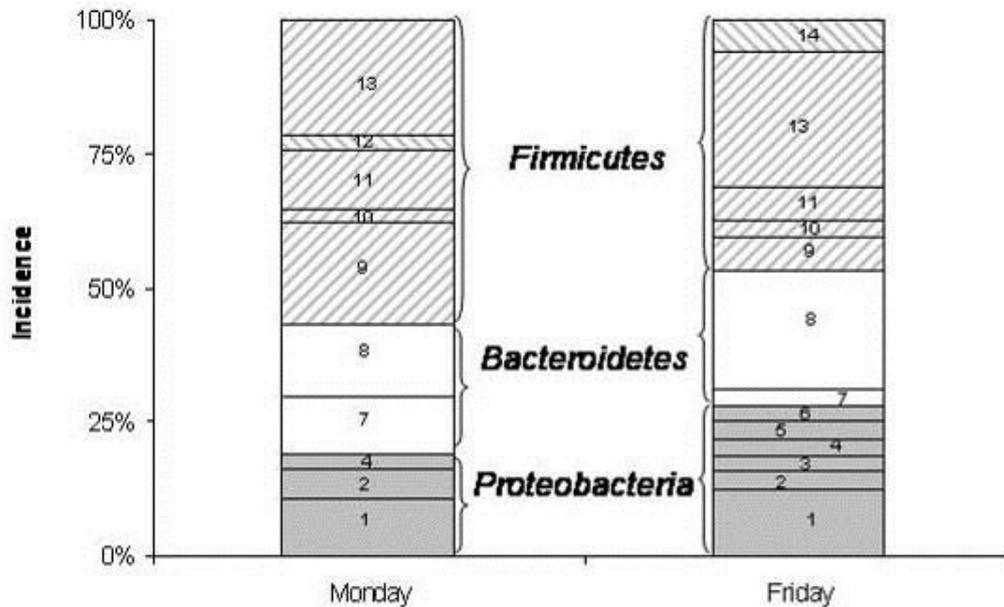


Figure 7: Diversité microbienne dans les échantillons collectés le lundi et le vendredi . 1: *Acetobacter* sp., 2: *Gulbenkiania* sp., 3: *Petrobacter* sp., 4: *Aeromonas* sp., 5: *Escherichia* sp., 6: *Desulfovibrio* sp., 7: *Bacteroides* sp., 8: *Prevotella* sp., 9: *Lactobacillus* sp., 10: *Clostridium* sp., 11: *Dialister* sp., 12: *Megasphaera* sp., 13: *Selenomonas* sp., 14: *Veillonella* sp.

Avec la collection de clones, il n'est pas possible de connaître la physiologie de ces clones non-cultivés et donc de savoir si ces microorganismes sont capables de dégrader les lipides. Il faudrait coupler cette étude génétique avec une approche fonctionnelle mesurant les activités lipolytiques. Des méthodes de marquage moléculaire avec des acides gras marqués par des isotopes stables ou radioactifs pourraient être couplées aux techniques

¹ Kaewpipat K., Grady C.P.L. (2002). *Water Sci.* 46: 19-27.

² Verstraete W. (2007). *The ISME Journal* 1: 4-8

³ Van der Gast C.J., Lilley A.K., Ager D., and Thompson I.P. (2005). *Environmental Microbiology* 7: 1220-1226

d'analyse des acides nucléiques pour identifier les taxons capables de dégrader les lipides, tout en s'affranchissant du biais cultural (e.g. FISH-MAR ou DNA-SIP).

Ces résultats montrent l'importance de développer des communautés dynamiques capables de supporter des fluctuations de conditions dans le SAG, tout en maintenant une activité de dégradation de la matière organique. La suite de l'étude traite de ce problème en explorant les liens entre diversité-stabilité-fonction en conditions stressantes et fluctuantes.

IV.2 Liens entre diversité et fonction en conditions stressantes

Dans les écosystèmes artificiels générés par la biotechnologie environnementale (e.g. bioréacteurs, boues activées, biofiltres), les communautés microbiennes sont souvent complexes et changent continuellement à la manière des communautés naturelles (1, 2). Les objectifs de conception des bioréacteurs devraient se déplacer vers la recherche d'une performance stable face aux perturbations, réalisée par des populations microbiennes dynamiques et diversifiées à l'instar des écosystèmes naturels. La biotechnologie doit donc en finir avec le concept de communauté stable héritée de Darwin et de Beijerinck et intégrer les nouvelles théories d'écologie (3). Si un corpus bien établi de théories existe pour l'écologie des plantes et des animaux, les différences entre les microorganismes et les macroorganismes restreignent grandement l'application de ces théories à l'écologie microbienne, formant une impasse tacitement acceptée et rarement remise en question (4).

Par exemple, l'idée que les espèces microbiennes soient résistantes, résilientes et redondantes sur le plan fonctionnel est prépondérante en écologie (5). Cette idée persistante est liée en grande partie à leur flexibilité métabolique, leurs densités élevées, leur apparente ubiquité (concept de Beijerinck « everything is everywhere »), leur croissance et évolution génétique rapides en laboratoire, et à la très grande diversité des bactéries. Cependant de nombreuses études récentes semblent contredire ce mythe, montrant que la composition des communautés bactériennes naturelles et leur taux d'activité sont sensibles aux perturbations et que l'effet de la perturbation peut perdurer dans le temps affectant des fonctions clés de l'écosystème comme la dégradation de la matière organique ou la nitrification (e.g. 6, 7, 8).

La biodiversité pourrait avoir un rôle important dans la stabilité du fonctionnement des écosystèmes comme assurance face aux perturbations, ce concept est appelé « hypothèse d'assurance » (9). Des approches théoriques, supportées par des données expérimentales, montrent que la stabilité d'une communauté est généralement élevée à des niveaux intermédiaires de diversité spécifique (10). Les mécanismes liant la diversité à la stabilité du fonctionnement de l'écosystème ne sont pas encore bien compris, cependant il y a un consensus parmi les écologistes disant qu'un large réservoir d'espèces est nécessaire pour maintenir le niveau d'activité fonctionnelle d'une communauté. En effet, plus il y a d'espèces disponibles, plus il y a de chance de recruter une ou plusieurs espèces capables de s'adapter aux nouvelles conditions de l'environnement (effet d'échantillonnage, 11). En plus de cet effet statistique, la variance de la mesure de la fonction étudiée diminue avec l'augmentation de la diversité ce qui augmente la mesure de la stabilité (effet de moyenne,

¹ Fernandez A.S., Hashsham S.A., Dollhopf S.L., et al. (2000). *Appl Environ Microbiol.* 66: 4058-4067.

² Curtis T.P., and Sloan W.T. (2004). *Current Opinion in Microbiology* 7: 221-226

³ Verstraete W. (2007). *The ISME Journal* 1: 4-8

⁴ Prosser J.I., Bohannan B.J.M., Curtis T.P. et al (2007). *Nature Reviews- Microbiology* 5: 384-392

⁵ Allison J.B.H., and Martiny S.D. (2008). *PNAS* 105: 11512-11519

⁶ Griffiths B.S., Ritz K., Bardgett R.D., et al. (2000). *Oikos* 90: 279-294

⁷ Tobor-Kaplon M.A., Bloem J., Romkens P.F.A.M. et al. (2005). *Oikos* 111: 119-129

⁸ Wertz S., Degrange V., Prosser J.I., et al. (2007). *Environmental Microbiology* 9: 2211-2219.

⁹ Yachi S., Loreau M. (1999). *Proc Natl Acad Sci. USA* 96: 1463-1468.

¹⁰ Loreau M., Naeem S., Inchausti P. et al. (2001). *Science* 294: 804-808.

¹¹ Loreau M., and Hector A. (2001). *Nature* 412: 72-76.

1). Un effet « portfolio » (co-variance négative) préviendrait les changements de taux des processus écosystémiques en moyennant les réponses de toutes les espèces (négatives et positives) aux perturbations (2). La stabilité fonctionnelle semble également renforcée par l'existence d'une multitude d'interactions faibles entre les espèces qui rendent la communauté moins sensible à la perte d'une ou quelques espèces (3). Enfin la redondance fonctionnelle semble limiter la perte de fonctions écosystémiques en dépit de fréquentes oscillations de densité et de composition des populations (4). Toutefois, les écologistes débattent encore sur l'universalité des corrélations positives entre la diversité et la stabilité qui ont été observées chez les plantes, et leur utilité pour un but prédictif (1, 5).

Une des questions qui se pose est de savoir si cette corrélation positive est vérifiée chez les microorganismes. Diverses études donnent des résultats contradictoires, certaines montrant une absence d'effet de la diversité microbienne sur la réponse à des perturbations et des stress (6,(7), alors que d'autres montrent en conditions stables un effet négatif du déclin de la diversité microbienne sur la stabilité de la décomposition de la matière organique (8, 9, 10), à la fois dans les milieux terrestres et aquatiques. L'importance de la diversité microbienne pour la stabilité des écosystèmes reste donc mal comprise en particulier lorsque ces écosystèmes sont soumis à des perturbations multiples. En effet, les perturbations et stress n'opèrent jamais indépendamment, mais plutôt interagissent pour produire des impacts combinés sur la biodiversité et le fonctionnement de l'écosystème (11, 12, 13).

Ces principes écologiques sont très attractifs pour la biotechnologie environnementale et l'application au traitement des eaux usées (14, 15). Ainsi un SAG biologique peut constituer un modèle idéal pour tester ces hypothèses écologiques. En effet, il peut être considéré comme un écosystème avec une faible diversité, que ce soit la diversité naturelle (voir étude phylogénétique ci-dessus) ou la diversité des biomasses commerciales utilisées dans les SAG qui ne dépassent généralement pas une dizaine d'espèces. Ces communautés présentes dans les SAG font face à des perturbations physico-chimiques multiples (détergents, températures, pH, apport et nature de la matière organique variables) qui peuvent chacune éliminer des espèces qui sont tolérantes pour un ou plusieurs des autres perturbateurs et donc avoir un impact très fort sur la stabilité du fonctionnement du bioréacteur. Nous avons donc constitué une collection de 172 souches isolées de SAG et de sédiments aquatiques pour tester l'importance du lien diversité-stabilité pour maintenir la dégradation bactériologique des graisses en présence de perturbations seules ou combinées. Les souches de la collection ont été identifiées par séquençage du gène de l'ARNr 16S et caractérisées métaboliquement (pH, température, galeries APIZYM, milieux de culture riches en lipides). Sur la base de leurs profils physiologiques et de leur identité, plusieurs souches ont été retenues et assemblées aléatoirement en communautés de diversité croissante et de composition différente (de 2 à 16 taxons, n= 10 à 12 par niveau de

¹ McGrady-Steed J., Harris P. M., and Morin P.J. (1997). *Nature* (London) 390: 162–165.

² Allison J.B.H., and Martiny S.D. (2008). *PNAS* 105: 11512–11519

³ Hooper, L.V., and Gordon, J.I. (2001). *Science* 292: 1115-1118.

⁴ Roberts M.S., Garland J.L., and Mills A.L.(2004). *Microbial Ecology* 47: 137-149

⁵ Cottingham K.L., Brown B.L.,and Lennon JT. (2001). *Ecol Lett.* 4: 72-85

⁶ Wertz S., Degrange V., Prosser J.I., et al. (2007). *Environmental Microbiology* 9: 2211-2219

⁷ Griffiths B.S., Bonkowski M., Roy J., Ritz K. (2001). *Appl Soil Ecol.* 16: 49–61

⁸ Bell T., Newman J.A., Silverman B.W., et al. (2005). *Nature* 436: 1157-1160.,

⁹ Degens B.P., Schipper L.A., Sparling G.P., Duncan L.C. (2001). *Soil Biology & Biochemistry* 33: 1143-1153

¹⁰ Griffiths B.S., Ritz K., Bardgett R.D., et al. (2000). *Oikos* 90: 279-294

¹¹ Breiburg D.L., Baxter J.W., and Hatfield C.A. (1998). In: *Understanding effects of multiple stressors: ideas and challenges. Successes, limitations and frontiers in ecosystem science.* M.L. Pace & P.M. Groffman (eds). Springer-Verlag, New York, pp. 416-431.

¹² Frost T.M., Montz P.K., Kratz T.K. et al. (1999). *Limnol. Oceanogr.* 44: 784-794.

¹³ Schindler D.W. (2001). *Can J Fish Aquat Sci.* 58: 18-29.

¹⁴ Fernandez A.S., Hashsham S.A., Dollhopf S.L., et al. (2000). *Appl Environ Microbiol.* 66: 4058-4067

¹⁵ Briones A., and Raskin L. (2003). *Current Opinion in Biotechnology* 14(3): 270-276.

diversité). Leur capacité à dégrader les graisses (activités lipases) en conditions stressantes stables ou fluctuantes (chocs thermiques et/ou ajout de détergent industriel) a été mesurée en microcosmes avec des substrats gras (mélange d'huiles alimentaires ou chapeau gras de SAG).

Nos résultats montrent que la diversité microbienne jouerait un rôle d'assurance sur la dégradation des graisses face à des perturbations multiples en conditions stables. En effet lorsque les assemblages ne subissaient pas de perturbation ou une seule perturbation, la diversité taxonomique n'avait aucun effet sur les biomasses maximales (7 jours), mais par contre en présence des deux perturbations combinées, la diversité était positivement corrélée avec la biomasse bactérienne (ANOVA, $F_{19,556}=12,57$, $p<0,01$, contrôlé par le traitement, interaction significative $p<0,01$, Figure 8). Le type de traitement a eut également un effet significatif sur les biomasses (ANOVA, $F_{19,556}=465,8$, $p<0,01$, contrôlé par la diversité, Figure 8). Les biomasses étaient significativement plus faibles lors des perturbations multiples.

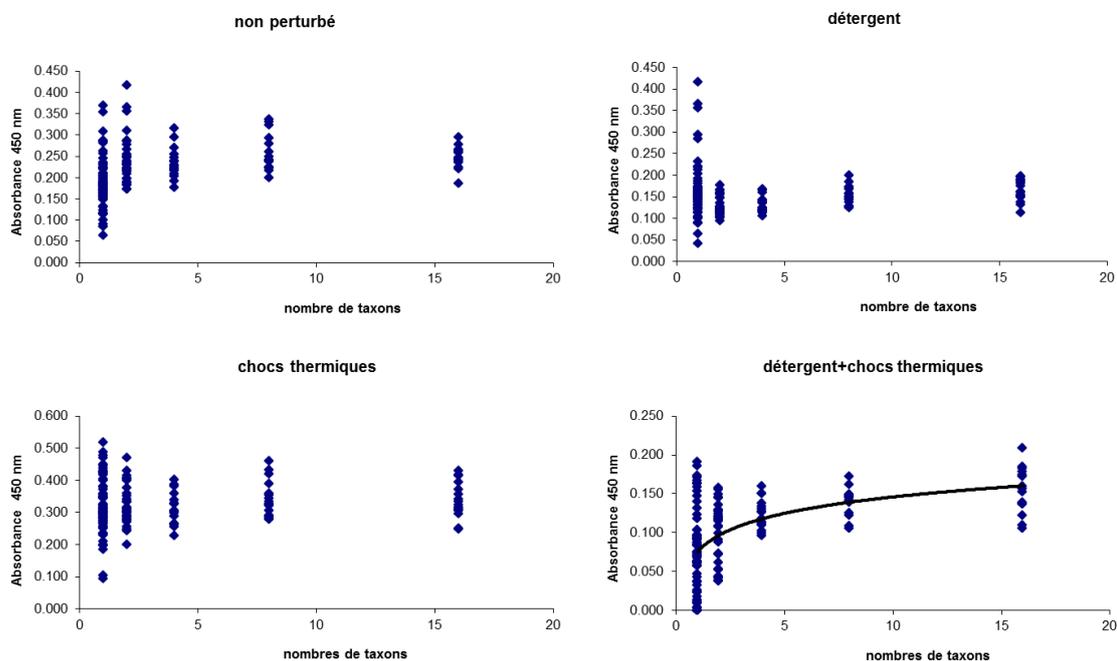


Figure 8. Relation entre le nombre de taxons et la densité bactérienne à 7 jours (absorbance à 450 nm) en présence d'un mélange d'huiles de table et en fonction du type de perturbation appliqué (ajout de 1 % détergent de restauration collective, chocs thermiques d'1 h à 44°C tous les jours, combinaison des deux perturbations). Les conditions non perturbées correspondent à une incubation à 25°C

Par ailleurs, cette relation diversité-fonction a aussi été testée en présence de graisse de SAG et en conditions fluctuantes de température et de concentration en détergent (oscillation de la température tous les 2 jours de 15 à 55°C, et augmentation concomitante de 0 à 1.5 % de détergent). Les résultats ont montré que malgré de fortes fluctuations des densités bactériennes, le coefficient de variation de la biomasse et celui de l'activité lipase, calculés sur l'ensemble de 12 jours d'incubation diminuent significativement avec la diversité taxonomique ($n=71$, $r=-0.46$, $p<0.001$ et $r=-0.44$, $p<0.001$ respectivement, Figure 8). La diversité taxonomique confère donc une meilleure stabilité temporelle à la dégradation des graisses en conditions fluctuantes.

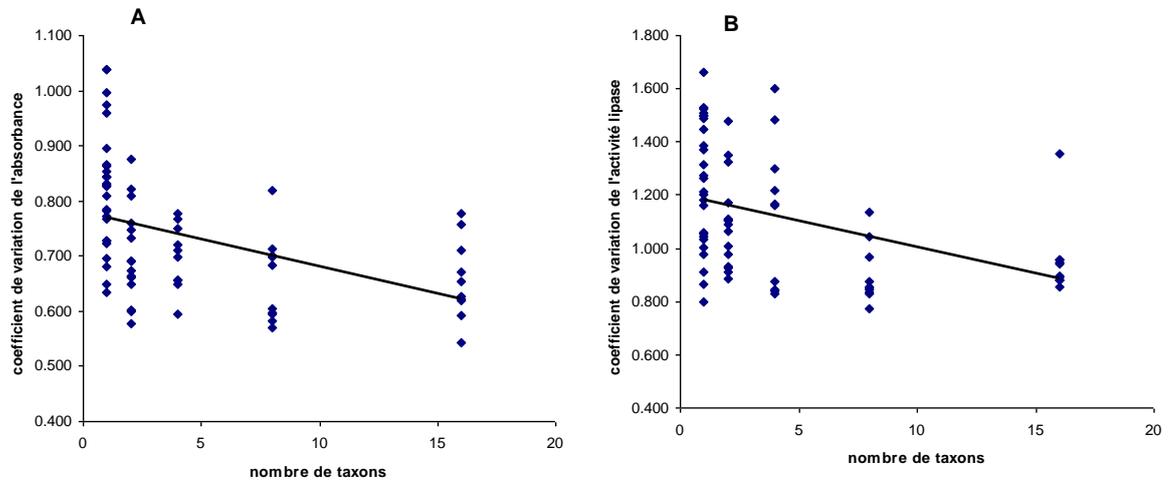


Figure 9. Relation entre la diversité taxonomique et le coefficient de variation temporel de la mesure de densités bactériennes (A, absorbance à 450 nm), et d'activités lipases (B, unités de fluorescence) pendant 12 jours d'incubation en conditions fluctuantes de température et de concentration en détergent

Ces résultats montrent que dans le cas d'un SAG où les communautés bactériennes font face à des perturbations multiples (changement de pH, de température, détergents) et fluctuantes (en fonction des heures de pointe du restaurant), la diversité des assemblages bactériens utilisés joue un rôle crucial pour la dégradation des graisses. Ils permettent d'expliquer pourquoi la plupart des études montrent que les suppléments microbiologiques sont plus performants lorsqu'ils sont constitués de plusieurs espèces que lorsqu'ils sont constitués d'une seule ou deux espèces (1). En effet, les biomasses commerciales utilisées dans les SAG biologiques sont sélectionnées sur leur capacité individuelle à dégrader les graisses, et généralement assemblées sans soucis de leur diversité et de leurs interactions. Par ailleurs ces assemblages ne sont jamais testés au regard de leur comportement en conditions perturbées. Nos résultats montrent l'existence d'une contextualisation de la relation diversité-fonction qui pourrait expliquer les disparités observées dans la littérature (e.g. 2 vs 3). L'effet d'assurance de la biodiversité pourrait dépendre de la manière dont les tolérances aux perturbations multiples sont distribuées entre et à l'intérieur des groupes fonctionnels (4). Par ailleurs nos résultats montrent aussi la difficulté à prédire l'effet de perturbations multiples à partir des effets respectifs des différentes perturbations isolées (4).

(4).

IV.3 Développement d'une méthode d'assemblage

Si la diversité microbienne permet de maximiser et maintenir les procédés de biodégradation face aux perturbations, alors un des objectifs de conception des bioréacteurs devrait être de maximiser la diversité (5). Actuellement, les systèmes utilisés en biotechnologie environnementale tendent à être conçus pour sélectionner quelques groupes fonctionnels très performants (e.g. bactéries nitrifiantes, archées méthanogènes). Cette recherche de « super »-microbes capables de réaliser les procédés cruciaux de manière

¹ Brooksbank A.M., Latchford J.W., Mudge S.M. (2007). *World J Microbiol Biotechnol.* 23: 977-985.

² Griffiths B.S., Ritz K., Bardgett R.D., et al. (2000). *Oikos* 90: 279-294

³ Griffiths B.S., Bonkowski M., Roy J., Ritz K. (2001). *Appl Soil Ecol.* 16: 49-61

⁴ Vinebrooke R.D., Cottingham K.L., Norberg J., et al. (2004). *Oikos* 104: 451-7

rapide, fiable et prédictible semble raisonnable à première vue (1). Cependant dans un écosystème, la capacité à faire face à une multitude de défis pour survivre et croître est au moins aussi importante que de posséder un trait spécifique pour dégrader un composé particulier. Les efforts devraient donc être portés sur la recherche de techniques qui permettent d'assembler en communauté les souches naturelles d'une manière effective (2, 3, 4, 5). Les théories écologiques sur les lois d'assemblage des communautés, la théorie sur la répartition des ressources et les liens diversité-fonction pourraient offrir un cadre conceptuel pour le développement de communautés microbiennes performantes et résilientes (1).

Récemment Salles et al (6) ont montré que la niche de communauté permettait d'expliquer les fluctuations de la dénitrification bactérienne. La niche de communauté est l'espace environnemental (combinaison de facteurs physico-chimiques et biologiques) couvert par l'ensemble des niches optimales de croissance et répartition des espèces constituant la communauté. Si on considère la niche comme l'impact que les espèces ont sur l'utilisation de la ressource (7), l'étendue des ressources utilisées par chaque espèce (étendue de la niche de chaque espèce) et le niveau de complémentarité observé entre les niches de chaque espèce dans une communauté est supposé avoir un impact sur la façon dont la diversité affecte les fonctions de l'écosystème (7). Une communauté hautement diverse avec un recouvrement spatial des niches pourrait minimiser l'instabilité de l'écosystème. L'étendue des niches des espèces pourrait permettre de définir l'étendue de la niche de la communauté et prédire leur performance dans un environnement avec des ressources multiples et faisant face à des perturbations multiples. De ce fait la niche de communauté pourrait servir d'outil pour assembler des communautés diversifiées en prédisant leur influence sur le fonctionnement de l'écosystème avant ou sans expérimentation. Cela reviendrait à tester s'il est possible de prédire le comportement d'une communauté à partir du comportement des espèces individuelles qui composent cette communauté.

Depuis mon recrutement au Leesu je me suis intéressée aux questions relatives aux liens entre le comportement des espèces bactériennes individuelles et leur comportement en communauté. Lors d'une collaboration avec G. Lacroix et C. Danger (ENS, Paris) nous avons testé si les assemblages se comportent différemment des monocultures pour l'utilisation optimale des ressources en nutriments. Ce travail a fait l'objet d'une publication sur l'utilisation optimale des ressources par les communautés (8). Comme nous avons pu le montrer dans cette étude les espèces semblent se comporter différemment en assemblage comparé aux monocultures (7). Dans cette expérience nous avons comparé en microcosme la capacité d'une communauté bactérienne (provenant du lac de Créteil, Val de Marne) et d'une souche *Pseudomonas fluorescens* à utiliser la ressource en carbone (glucose) le long d'un gradient de phosphate. Les résultats ont montré que la loi de Liebig du minimum habituellement utilisée pour les populations n'était pas vérifiée au niveau de la communauté. Cette loi établit que seulement un élément limite la croissance des organismes à un temps donné (9). Malgré les fluctuations de la ressource en phosphate, la communauté diversifiée a maintenu sa biomasse en ajustant sa stoechiométrie en C et P à celle de ses ressources via des mécanismes de sélection et de complémentarité (Figure 10). A l'échelle de la communauté il existe donc une limitation simultanée par des ressources multiples (co-limitation) et une utilisation optimale des ressources qui permet de maximiser la biomasse.

¹ McMahon K.D., Garcia Martin H., and Hugenholtz P. (2007). *Current Opinion in Biotechnology* 18: 287-292

² Boon N., De Gelder L., Lievens H., and Verstraete W. (2002). *Environ Sci Technol.* 36: 4698-4704.

³ Watanabe K., Teramoto M., Harayama S. (2002). *Environ Microbiol.* 4: 577-583.

⁴ Maes A., Van Raemdonck H., Smith K., et al (2006). *Environ Sci Technol.* 40: 5544-5552.

⁵ Verstraete W. (2007). *The ISME Journal* 1: 4-8

⁶ Salles J.F., Poly F., Schmid B., Le Roux X. (2009). *Ecology* 90: 3324-3332

⁷ Leibold M.A., McPeck M.A. (1995). *Ecology* 87: 1399-1410

⁸ Danger M., Daufresne T., **Lucas F.**, Pissard S., and Lacroix G. (2008). *Oikos* 117: 1741-51

⁹ Odum E.P. (1959). *Fundamentals of ecology* (2nd ed.). Saunders, Philadelphia..

Ces résultats semblent donc limiter la possibilité de prédire le comportement d'un assemblage bactérien à partir de souches isolées. Cependant cette étude ne prenait pas en compte l'ensemble des espèces composant la communauté mais seulement une souche pure.

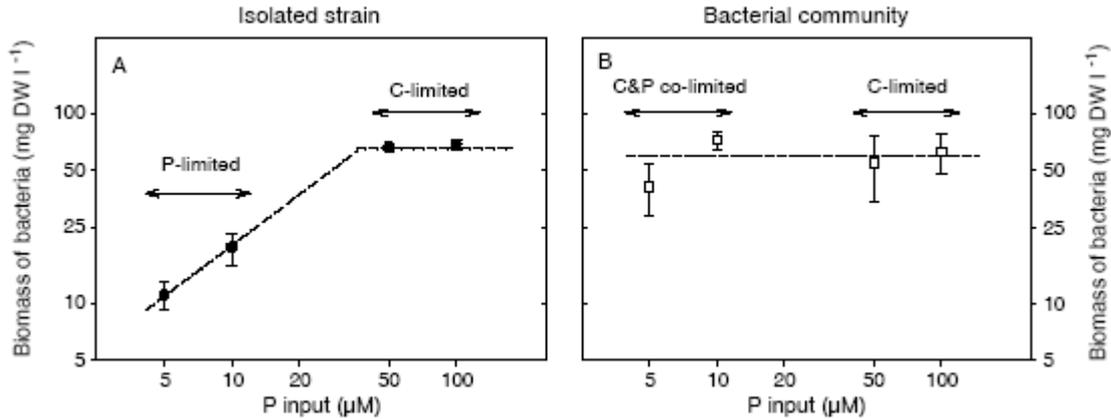


Figure 10. Comparaison des biomasses bactériennes ($n=3$) le long d'un gradient de phosphore entre une souche pure (A) et une communauté bactérienne naturelle (B). Les éléments limitants la croissance bactérienne estimés par modélisation sont indiqués sur le graphe

De fait on peut se demander s'il est possible de prédire le fonctionnement d'une communauté sur la base uniquement des performances individuelles de chaque espèce en monoculture. Ou bien s'il est nécessaire de prendre en compte le comportement de chaque souche dans une communauté complexe ou elle fera face à des interactions positives et négatives avec les autres espèces. L'étude expérimentale sur les liens entre diversité et stabilité pour la dégradation des graisses en conditions perturbées fluctuantes (voir paragraphe précédent) permet également de tester l'utilité du concept de niche de communauté pour prédire le comportement des assemblages diversifiés à partir du comportement des monocultures (Figure 9). Ce dernier travail est en cours d'analyse des résultats et a fait l'objet d'une collaboration avec L. Moulin (Eau de Paris) et X. le Roux (FRB). Cette expérience permettra d'estimer l'étendue de la niche écologique de chaque espèce pour la dégradation des graisses dans différentes conditions. Le calcul de niche de communauté sera effectué en sommant les activités lipases des espèces les plus performantes pour la dégradation des graisses de SAG à différentes combinaisons température-détergent. A partir de ces données la niche de communauté théorique de chaque assemblage sera comparée aux performances expérimentales de chaque assemblage en vue de vérifier s'il est possible de prédire la performance d'un assemblage face à des conditions fluctuantes en se basant sur les performances individuelles en conditions constantes.

V. Bilan et perspectives de recherche

Laboratoires	Leesu, UPEC, France
Acteurs	R. Moilleron (Leesu, UPEC), L. Moulin (Eau de Paris) S. Haenn (Eau de Paris), X. Leroux (FFB, Paris)
Etudiants	Y. Adolfe (Postdoctorante, Eau de Paris) A. Sonthonnax (PhD, Leesu, UPEC), M. Ouhaes (technicien, Leesu, UPEC) Q. Baranthon (Master 2, Leesu, UPEC) A. (Master 2, Leesu, UPEC)
Financements	2005-2010: Ville de Paris attribué à L. Moulin
Publication	Danger et al. 2008

Dans le cadre d'un projet ANR qui pourrait être déposé en collaboration avec l'entreprise St Dizier Environnement, nous avons l'ambition de valoriser la méthode d'assemblage avec un SAG biologique de « 3^{ème} génération » qui comprendra des améliorations physiques et biologiques. En effet nos résultats suggèrent qu'il serait possible de rationaliser l'assemblage des communautés en vue de maintenir des performances stables en conditions fluctuantes. En se basant sur la méthodologie d'assemblage que nous sommes en train de mettre en place, nous assemblerons une à plusieurs communautés qui pourront être comparées aux performances des biomasses commerciales. Ces communautés seront assemblées non pas de manière empirique, mais en utilisant des indicateurs de performance tels que le coefficient de variation temporelle et la niche de communauté. Le niveau minimum de diversité requis pour obtenir une performance stable pourrait dicter les limites à la fois d'une conception faisable et de l'intensification des procédés de traitement (1).

A côté de ce projet appliqué je souhaiterais aussi continuer à approfondir les relations entre diversité et stabilité au sein des communautés bactériennes. Une des pistes à creuser pourrait être de tester en microcosme les relations réciproques entre la biodiversité et la sévérité des perturbations. En effet il est difficile de savoir si la sévérité d'une perturbation est la cause et/ou la conséquence de l'étendue de la diversité dans un écosystème, d'autant plus que les relations entre diversité et perturbations peuvent être très variables (2).

¹ Curtis T.P., Head I.M., Graham D.W. (2003). *Environ Sci Technol.* 1: 65-70 A

² Hughes, A. R., Byrnes, J. E. *et al. Ecology Letters* **10**, 849-864 (2007).

VI. Qualité microbiologique des eaux urbaines

La directive européenne sur l'eau (2000/60/CE) et la directive baignade (2006/7/EC), traitent de la nécessité de surveiller la qualité microbiologique des eaux de surface, qui constitue un enjeu considérable pour l'agriculture, la production d'eau potable, les activités de récréation et la protection des milieux naturels. Si l'amélioration des filières de traitement en station d'épuration a beaucoup contribué à diminuer l'impact des rejets de temps sec, la qualité des eaux de surface reste affectée par les rejets de temps de pluie. La pollution diffuse des eaux de ruissellement et les débordements des réseaux d'assainissements unitaires et séparatifs entraînent un déversement d'eaux non traitées dans le milieu récepteur (1, 2). En période de pluie, les débits en réseaux unitaires peuvent atteindre jusqu'à 100 fois le débit de temps sec et dépassent donc la capacité de traitement de l'usine et/ou de transport des conduites (3).

Diverses méthodes ont été développées pour tenter de réduire la fréquence et le volume de ces déversements, dont le contrôle à la source, le stockage temporaire, la répartition des débits et le traitement rapide d'une partie de la pollution. Ainsi les volumes importants arrivant sur les stations d'épuration (STEP) ou les systèmes de dépollution des eaux pluviales (SDEP) peuvent être traités rapidement en augmentant les capacités de décantation et en reconfigurant les filières de traitement. L'efficacité des ouvrages de traitement tels que les décanteurs et les biofiltres en temps de pluie sur l'abattement des contaminations microbiologiques est mal connue. Les études publiées sur la qualité microbiologique des eaux en temps de pluie, portent uniquement sur les taux d'indicateurs dans les rivières et sur les côtes ou les lacs (e.g. 4, 5) ou sur les usines de potabilisation (6). L'acquisition de connaissances sur les efficacités de traitement des eaux usées et pluviales vis-à-vis des microorganismes est donc cruciale. De plus parmi les solutions possibles pour faire face à l'augmentation de la demande en eau liée à l'accroissement de la population humaine, il est notamment envisagé d'utiliser les eaux traitées et les eaux pluviales pour les usages domestiques et l'irrigation (7). Les inquiétudes principales des gestionnaires portent sur le risque lié aux contaminations microbiennes de ces eaux qui pourraient avoir un impact sur la santé publique en fonction de l'usage qui en sera fait. En France, un tout nouvel arrêté porte justement sur la qualité exigée des eaux résiduaires traitées pour leur réutilisation (arrêté relatif à l'utilisation des eaux résiduaires urbaines issues du traitement d'épuration pour l'irrigation et l'arrosage du 2 août 2010). Il existe donc une forte demande des gestionnaires de suivi de la qualité microbiologique des eaux en milieu urbain, mais également un fort besoin de compréhension du comportement des pathogènes dans les ouvrages de traitement des eaux usées et pluviales, les ouvrages de collecte des eaux pluviales et dans les milieux récepteurs.

Les pratiques de contrôle des pathogènes devraient notamment être basées sur une meilleure compréhension de l'écologie microbienne en tenant compte non seulement des facteurs abiotiques (UV, pH, température, bactéricides) mais aussi des interactions biotiques tels que l'exclusion compétitive, la prédation, la lyse virale, la communication chimique (8, 9). De plus il devient de plus en plus évident que beaucoup de pathogènes humains (e.g. *Mycobacterium avium*, *Vibrio cholerae*, *Burkholderia cepacia*, *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*) ont acquis certains de leurs facteurs de virulence et leur résistance aux antibiotiques dans les écosystèmes naturels et que les stratégies qu'ils ont

¹ Bryan Ellis J. and Yu Wang (1995). *Water Science and Technology* 31(7): 303-310

² Foster S.S.D., Chilton, P.J. (2004). *Hydrogeology Journal* 12(1): 115-120

³ Villeneuve J.P., Marcoux C., Cyr J. F., et al. (1992). *Science et techniques de l'eau* 26(3): 229-237.

⁴ Characklis G.W., Dilts M.J., Simmons III O.D., et al. (2005). *Water Research* 39: 1773-1782

⁵ Marsalek J., and Rochfort Q. (2004). *J Toxicology and Env Health, Part A* 67: 1765-1777.

⁶ Hurst A.M., Edwards M.J., Chipps M., et al. (2004). *Science of the Total Environment* 321: 219-230

⁷ Mazari-Hiriart M., Ponce-de-León S., López-Vidal Y., et al. (2008). *PLoS ONE* 3(5): e2305

⁸ Dewettinck T., Van Houtte E., Geenens D, et al. (2001). *Wat Sci Technol.* 43: 31-38.

⁹ Signor R.S., and Ashbolt N.J. (2006). *Water Science and Technology* 54(3): 261-8.

développées pour leur croissance et leur survie en milieu naturel peuvent leur accorder des avantages pour infecter leurs hôtes humains (1). Par exemple l'épaisse paroi cireuse des mycobactéries non-tuberculeuses (MNT) leur confère une haute hydrophobicité et une résistance aux UV, qui leur permettent d'occuper des niches écologiques aux interfaces air-eau ou eau-solide où elles dégradent la matière organique hydrophobe récalcitrante (e.g. lipides, hydrocarbures, acides humiques et fulviques, 2). Cette même paroi riche en lipides leur confère également une résistance extrême aux antibiotiques et traitements de désinfection par les UV et chlore (2). Du fait de la nature hydrophobique de leur paroi, la plupart des MNT dans les eaux non-traitées sont attachées aux particules en suspension et les procédés de traitement qui réduisent la turbidité sont efficaces pour retirer les mycobactéries (3). Cet exemple montre comment une meilleure connaissance de l'écologie et l'éco-physiologie des pathogènes dans leur environnement naturel peut avoir des implications pour les traitements de ces microorganismes.

Dans le cadre de l'Observatoire de Polluants Urbains (OPUR), je travaille sur deux projets liés à la qualité microbiologique des eaux pluviales et des eaux usées. J'utilise des concepts écologiques et des outils de l'écologie microbienne pour mieux comprendre l'effet des procédés de traitement et de stockage de l'eau vis-à-vis des microorganismes. Un des projets a pour objectif d'améliorer les connaissances sur l'efficacité d'abattement des micropolluants (chimiques et microbiologiques) par les décanteurs lamellaires en temps de pluie, que ce soit en station d'épuration (STEP) ou en station de dépollution des eaux pluviales (SDEP) afin d'évaluer la pertinence de ces stratégies de contrôle des rejets urbains de temps de pluie (RUTP). L'autre projet, appelé Qualico et financé par le DIM R2DS de la région Ile de France, porte sur la qualité microbiologique des eaux de pluie collectées par les particuliers et l'impact des pratiques d'entretien des toitures et des cuves sur cette qualité. J'essaie de comprendre comment les pratiques d'entretien affectent la diversité bactérienne dans les cuves de récupération et par conséquent la résistance de ces communautés aux invasions par un pathogène. Enfin dans le cadre du projet de recherche interdisciplinaire PIREN-Seine, je participe à l'évaluation de l'impact des RUTP et des rejets de station d'épuration sur la qualité microbiologique de la Seine. Ce projet est réalisé dans le cadre de la thèse de N. Radomski sur les sources de mycobactéries non-tuberculeuses dans le bassin versant de la Seine.

VI.1 Sources de mycobactéries dans les bassins versants

Les mycobactéries non-tuberculeuses (MNT) sont pour la plupart des espèces saprophytes (4), cependant certaines espèces se révèlent également être des pathogènes opportunistes impliqués dans des infections nosocomiales, des infections de la peau et des tissus mous, et des infections généralisées chez l'homme et chez l'animal (1). Avec l'augmentation récente de la fréquence des mycobactérioses chez l'homme se pose la question de l'origine de ces pathogènes émergents (5). Les MNT semblent être acquises de l'environnement et il n'y a aucune évidence de transmissions entre humains. Dans la plupart des cas de mycobactériose, l'eau a été impliquée comme voie possible de transmission (5). Les changements d'usage de l'eau depuis plusieurs décennies (dont les

¹ Morris C.E., Kinkel L.L., Xiao K. et al.. (2007). *Infection, Genetics and Evolution* 7: 84-92

² Falkinham III J.O. (2004). In : *Pathogenic mycobacteria in water : a guide to public health consequences, monitoring and management*. Pedley S., Bartram J., Rees G. et al. (eds), World Health Organization, IWA Publishing, London, UK, pp.26-38.

³ Falkinham III J.O., Nichols G., Bartram J. et al. (2004). In : *Pathogenic mycobacteria in water : a guide to public health consequences, monitoring and management*. Pedley S., Bartram J., Rees G. et al. (eds), World Health Organization, IWA Publishing, London, UK, pp. 15-23

⁴ Vaerewijck M.J.M., Huys G., Palomino J.C., et al. (2005). *FEMS Microbiology Reviews* 29: 911-934.

⁵ Wallace J.B., Eggert S.L., Meyer J.L., Webster J.R. (1997). *Science* 277: 102-104

traitements de l'eau par chloration, UV et/ou ozone) ont sans doute contribué à l'augmentation des cas en favorisant la prolifération des MNT et/ou en augmentant la fréquence des contacts.

Les sources et les réservoirs de MTN dans l'environnement sont hétérogènes et difficiles à étudier car les MNT sont ubiquistes et très diversifiées. Leurs habitats naturels comprennent les sols, les sédiments, l'eau douce et marine (1). Les MNT peuvent être isolées d'une grande variété de niches écologiques dans les écosystèmes aquatiques naturels ou industriels (2). Leur ubiquité dans l'environnement est due à leur capacité à exploiter des niches écologiques peu occupées par les autres microorganismes (1). Dans les systèmes de distribution d'eau, ces bactéries oligotrophes peuvent former des biofilms et servir de réservoir. Une étude menée à Paris a montré que 72 % des échantillons collectés dans le système de distribution de l'eau potable contenaient jusqu'à 500 mycobactéries.ml⁻¹ (3). Parce que les MNT constituent des pathogènes opportunistes notables pour les humains et les animaux domestiques, il est extrêmement important de comprendre les conditions écologiques qui contribuent à leur prolifération, leur persistance et à l'émergence de souches pathogènes dans les écosystèmes aquatiques (4, 5). Cependant leur écologie et leur diversité dans l'environnement restent peu connues. Nous avons particulièrement besoin d'améliorer les méthodes de détection dans l'environnement afin d'identifier les sources et réservoirs de MNT et de développer des stratégies de désinfection (2).

Dans le cadre de la thèse de N. Radomski, nous cherchons à évaluer les sources ponctuelles et diffuses de MNT en milieu urbain et péri-urbain en évaluant la densité et la diversité des MNT. Cette thèse est dirigée par R. Moïlleron (Leesu) et co-encadrée par moi-même, en collaboration avec E. Cambau du Centre National de Référence des mycobactéries (Université Paris Diderot, Hôpital Saint-Louis) et L. Moulin (Eau de Paris). Une collaboration avec J.O. Falkinham a permis un séjour de 3 mois de N. Radomski à l'université VirginiaTech (USA). Par ailleurs, une collaboration avec M. Behr (Université McGill, Canada) a été initiée par N. Radomski et devrait se concrétiser par un postdoctorat. Les travaux de N. Radomski ont fait l'objet de 2 publications et un chapitre de livre (6, 7, 8). Cette thèse a été également étayée par 2 stages de Master (L. Betelli et Y. Boudali). Les sources étudiées comprennent des rejets d'eaux usées, des sols urbains et ruraux, ainsi que rejets diffus en temps de pluie. Pour réaliser ce type d'étude, il a été nécessaire de développer et de standardiser des outils analytiques adaptés à la détection des MNT dans les échantillons de l'environnement. Comme il n'existe pas de consensus sur la méthode de détection des MNT en milieu aquatique, deux techniques de quantification des MNT dans les eaux de surface ont été mises en place : une technique par mise en culture et une technique de détection par PCR en temps réel.

L'isolement et le dénombrement des MNT de l'environnement sur les milieux de culture est particulièrement difficile car il n'existe pas de milieu sélectif pour les mycobactéries. De

¹ Falkinham III J.O., Nichols G., Bartram J., et al. (2004). In : Pathogenic mycobacteria in water : a guide to public health consequences, monitoring and management. Pedley S., Bartram J., Rees G. et al. (eds), World Health Organization, IWA Publishing, London, UK, p.15-23

² Falkinham III J.O. (2004). Pathogenic mycobacteria in water : a guide to public health consequences, monitoring and management. Pedley S., Bartram J., Rees G. et al. (eds), World Health Organization, IWA Publishing, London, UK, p.26-38.

³ Le Dantec C., Duguet J.P., Montiel A., et al. (2002). *Appl Environ Microbiol.* 68: 5318-5325.

⁴ Bland C.S., Ireland J.M., Lozano E., et al. (2005). *Appl Environ Microbiol.* 71: 5719-5727.

⁵ Morris C.E., Kinkel L.L., Xiao K., et al. (2007). *Infection, Genetics and Evolution* 7: 84-92

⁶ Radomski N., Cambau E., Moulin L., Haenn S., Moïlleron R., and **Lucas F.S.** (2010). *Appl Environ Microbiol. Microbiol.* 76: 3514-3520

⁷ Radomski N., **Lucas F.S.**, Moïlleron R., et al. (2010). *Appl Environ Microbiol.* 76: 7348-7351

⁸ Radomski N., Moïlleron R., **Lucas F.S.**, and Falkinham III J.O. (in press). in: Current Research Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, Microbiology book Series, 2. Ed. A. Méndez-Vilas, Spain.

ce fait les milieux de culture développés pour les MNT ne sont pas adaptés aux eaux de surface qui contiennent des espèces aux croissances plus rapides que les MNT. En se basant sur la résistance particulière des MNT aux antibiotiques et aux traitements chimiques, des stratégies de décontamination sont généralement adoptées pour cultiver les MNT en milieu clinique ou en environnement. Cependant il n'existe pas de consensus sur la meilleure méthode à appliquer pour les échantillons de l'environnement. En utilisant des échantillons d'eau collectés dans la Seine (France) et concentrés par centrifugation, nous avons comparé l'efficacité de différentes méthodes de décontamination, combinées ou non avec l'utilisation d'additifs antibiotiques (PANTA et PANTA+vancomycine). La combinaison du supplément PANTA avec la décontamination au chlorure de cetylpyridinium 0.05 % (30 min de contact) est apparue comme le meilleur compromis pour une inhibition maximale des microorganismes compétiteurs sur le milieu de Middlebrook 7H11j sans inhibition trop forte des mycobactéries (1). Cette technique a permis d'isoler 8 espèces de MNT différentes dont l'espèce *M. chelonae* (identifiées avec le gène de l'ARNr 16S et le gène de la protéine de choc *hsp65*) à partir d'échantillons de prise d'eau potable de l'usine d'Orly. Cependant aucun dénombrement fiable des MNT n'a pu être obtenu dans les échantillons testés (2). Nous recommandons donc cette méthode pour les analyses qualitatives mais pas pour les analyses quantitatives de MNT dans les environnements aquatiques.

En vue d'évaluer des sources ponctuelles de MNT dans les bassins versant, il nous a semblé plus judicieux d'utiliser une méthode de PCR (Polymerase Chain Reaction) quantitative. Deux méthodes de PCR en temps réel (qPCR), ciblant le gène l'ARNr 16S et le gène *hsp65*, ont été publiées pour les MNT mais elles ont été uniquement appliquées à des échantillons cliniques et d'eau industrielle (2, 3). De plus leur spécificité vis-à-vis des MNT n'avait pas été testée de manière rigoureuse. Notre objectif a donc été de développer une méthode de quantification des MNT par qPCR qui soit applicable aux échantillons d'eau de surface et de comparer cette nouvelle méthode avec ces 2 techniques précédemment publiées (4). En raison de sa spécificité et sa sensibilité le couple 110F/1571R ciblant les gènes de l'ARNr 16S a été retenu. Une sonde (H19) avait déjà été publiée mais jamais utilisée en PCR quantitative (5). Après quelques modifications du protocole publié, il est apparu que cette sonde confèrait une spécificité parfaite à ce couple d'amorce lorsqu'il était testé par PCR en temps réel de chimie TaqMan. La nouvelle méthode développée, était plus spécifique que les autres deux méthodes qPCR publiées (Tableau 3). Par conséquent nous avons retenu la méthode que nous avons développée et l'avons utilisée pour optimiser la procédure d'extraction d'ADN mycobactérien des échantillons d'eau de Seine. La comparaison des méthodes d'extraction d'ADN mycobactérien a montré que la lyse enzymatique combinée au bromure d'hexadécyltriméthylammonium était la procédure la plus efficace pour énumérer par qPCR les MNT dans des échantillons environnementaux, bien que le taux de récupération de l'ADN de *Mycobacterium chelonae* ajouté dans l'échantillon n'était que de 33 % au maximum. De plus, une stratégie *in silico* de comparaison de génomes bactériens totalement séquencés à l'aide du logiciel MycoHit a été développée dans le but de décrire des nouvelles cibles de détection (Collaboration avec M. Behr, Université McGill, Canada). L'analyse *in silico* a permis de détecter 11 protéines présentant entre 80 % et 100 % de similarité dans les génomes mycobactériens et moins de 50 % de similarité dans les génomes non-mycobactériens des genres *Corynebacterium*, *Nocardia* et *Rhodococcus*. Sur la base d'alignements des séquences d'ADN de ces cibles potentielles, il a été possible de dessiner des amorces PCR et une sonde pour détecter le gène codant la sous-unité C de la synthase de l'adénosine triphosphate qui semble exclusivement conservée dans le génome mycobactérien.

¹ Radomski N., Cambau E., Moulin L., Haenn S., Moilleron R., and **Lucas F.S.** (2010). Appl Environ Microbiol. 76: 3514-3520

² Dutil S., Veillette M., Mériaux A., et al. (2007). Environmental Microbiology 9: 2836-2843.

³ Tobler N.E., Pfunder M., Herzog K., et al. (2006). J Microbiol Methods 66: 116-124

⁴ Radomski N., **Lucas F.S.**, Moilleron R., et al. (2010). Appl Environ Microbiol. 76: 7348-7351

⁵ Garcia-Quintanilla A., Gonzalez-Martin J., Tudo G., et al. (2002). J Clin Microbiol. 40: 4646-4651.

Tableau 3 Comparaison des limites de quantification, de la sensibilité et la spécificité des 3 techniques de qPCR (n=9). Les quantités d'ADN sont exprimées en nombre d'équivalents génomes de *M. chelonae* (GE). Méthode A, développée par nous-même à partir des amorces 110F/1571R et de la sonde H19R. Méthode B développée par Dutil et al. (1) et méthode C développée par Tobler et al. (2),

Caractéristiques de la méthode	Méthode de PCR quantitative ^a		
	A	B	C
Limite de quantification (GE)	79-393	16-79	16-79
Sensibilité, nombre de MNT détecté sur 30 espèces testées	23	30	30
Spécificité, nombre de genres non-mycobactériens détectés sur 24 testés	0	13	2

Rechercher les sources et réservoirs de pathogènes est difficile, en particulier avec des pathogènes opportunistes de l'environnement comme les MNT. Ils n'ont pas d'hôte spécifique, et les sources doivent être cherchées au niveau du bassin versant comme sources ponctuelles et diffuses. Des échantillonnages ont été réalisés en temps sec et en temps de pluie sur le bassin versant de la Seine et dans des sols urbains et ruraux. Nous avons mis en évidence que les événements pluvieux diminuent la densité de MNT dans l'eau de surface et que les sols acides peuvent être des sources naturelles majeures de MNT qui pourraient impacter des zones faiblement urbanisées en temps de pluie via le ruissellement. En effet, la densité de MNT a été mesurée dans divers sols ruraux et urbains qui ont été caractérisés par différents paramètres physico-chimiques. Les densités de MNT les plus importantes ont été mesurées dans des sols de forêts tourbeuses ($9,27 \times 10^4 \pm 5,00 \times 10^4$ copies/g sec) et dans des sols urbains faiblement urbanisés proches de marécages côtiers ($1,71 \times 10^6 \pm 2,85 \times 10^6$ copies/g sec) alors qu'aucune MNT n'a été détectée dans les autres types de sols étudiés. De plus, la densité de MNT a été significativement associée à des sols présentant des valeurs faibles de pH et des teneurs fortes en humidité, matière organique et fer. Ces résultats suggéraient que les MNT sont dépendantes de leur production intra et extracellulaire de chélateurs de fer (3) et indiqueraient que les zones faiblement urbanisées pourraient être impactées par la proximité de marais acides. Afin d'étudier une autre source diffuse, les densités de MNT ont été mesurées avant, pendant et après un événement pluvieux dans l'eau de surface de la Marne et de trois de ses principaux affluents (la Beuvronne, La Gondoire et le Morbras), en amont et aval des confluences. Les densités de MNT ont été estimées à $2,16 \times 10^5 \pm 2,36 \times 10^5$ copies/L dans environ 20 % des échantillons d'eau collectés, et elles ne différaient pas significativement entre les zones urbaines, péri-urbaines et rurales échantillonnées. Nos résultats ont montré que la pluviométrie et la durée de l'événement expliquaient la diminution du nombre de MNT détectées dans l'eau de surface au cours de l'événement pluvieux. Ces résultats ont souligné que certains affluents de la Marne pouvaient apporter des MNT en temps sec, mais qu'au cours de l'événement pluvieux les densités de MNT diminuaient.

VI.2 Abattement des microorganismes par les traitements primaires et secondaires

La perspective d'augmentation de l'intensité des événements pluvieux liés aux changements climatiques (4) combinée aux changements d'usage du territoire, met en

¹ Dutil S., Veillette M., Mériaux A., et al. (2007). *Environmental Microbiology* 9: 2836-2843

² Tobler N.E., Pfunder M., Herzog K., et al. (2006). *J Microbiol Methods* 66: 116-124

³ Rodriguez G.M., Smith I. (2003). *Molecular Microbiology* 47:1485-1494

⁴ Planton S., Déqué M., Chauvin F., Terray L. (2008). *C.R. Geoscience* 340 : 564-574

lumière le besoin urgent d'améliorer la connaissance sur la performance des structures de traitement des eaux usées et pluviales. En effet, si les infrastructures de l'assainissement sont relativement bien maîtrisées en temps sec, la qualité des rejets est encore problématique lors des événements pluvieux intenses (1). En temps de pluie le nombre de bactéries indicatrices de contamination fécale peut augmenter d'un facteur 100 selon l'intensité de la pluie et les conditions météorologiques précédentes (2, 3). Or parmi les microorganismes véhiculés par les réseaux d'assainissement, des espèces pathogènes peuvent être présentes (4). Par conséquent les contaminations fécales commencent à être considérées dans la mise en place de systèmes de contrôle et de traitements des RUTP (e.g. SDAGE de l'Agence de l'Eau Seine Normandie). Cependant l'amélioration des connaissances sur la microbiologie des RUTP est essentielle pour le développement à long terme de stratégies de contrôle des pollutions microbiologiques à l'échelle des bassins versants.

Pour améliorer l'efficacité des traitements des eaux usées et des eaux pluviales dans l'abattement des microorganismes, il est nécessaire de bien connaître l'écologie de ces microorganismes. En effet, dans de nombreux écosystèmes les cellules bactériennes sont majoritairement associées aux particules. Ainsi lors de mes travaux en thèse et en postdoctorat, j'ai montré que 94 % des bactéries dans les sédiments de marais salés étaient attachées à des particules (5), et 99 % des bactéries colonisant les plumes ventrales d'étourneaux étaient fixées aux barbules (6). De nombreux autres auteurs ont montré que 90-99 % des bactéries étaient attachées aux particules dans les environnements aquatiques (e.g. 7). Les procédés de décantation et de filtration conçus pour retirer les particules des eaux usées ou pluviales pourraient donc abattre une grande partie des microorganismes arrivant avec l'effluent si ceux-ci sont majoritairement attachés aux particules. De plus le pourcentage d'attachement des bactéries semble augmenter en temps de pluie dans les rivières comparé au temps sec (8).

Afin de tester si le taux d'abattement microbien par les décanteurs et les traitements biologiques (biofiltres et boues activées) en temps de pluie et en temps sec dépend du taux d'attachement des bactéries dans les effluents d'eau usée et d'eau pluviale, nous avons échantillonné différents types de décanteurs et traitements biologiques en zone urbaine intense (Station d'épuration Seine-Centre, Colombes) et en zone péri-urbaine (Station d'épuration Seine-Amont, Valenton). A la station Seine-Centre, les effluents provenant du réseau d'assainissement unitaire de Paris (mélange d'eaux usées et d'eaux pluviales) sont traités par décantation physico-chimique (lamelles et ajout de floculant/coagulant) et par biofiltration (9). A la station Seine-Amont, les eaux usées issues d'un réseau majoritairement séparatif sont traitées par décantation simple, puis boues activées et clarification. En temps de pluie la nature de l'effluent et les débits sont différents comparés au temps sec, et les filières de traitement de la station Seine-Centre changent de configuration. Nous avons réalisé des échantillonnages en temps de pluie et temps sec au niveau de chaque procédé sur ces deux stations, afin de déterminer les indicateurs de contamination fécale et d'étudier les densités et la diversité des communautés bactériennes. Ce projet se base sur une collaboration étroite avec J. Gasperi (Leesu), le Syndicat intercommunal d'Aménagement de l'Agglomération Parisienne (SIAAP) et le conseil Général du Val de Marne et il est financé par l'observatoire des Polluants Urbains (OPUR). Deux

¹ Marsalek J., and S. Kok (1997). *Water Qual Res J Can.* 32 (numéro thématique): 1-226.

² McCarthy D.T., Mitchell V.G., Deletic A. and Diaper C. (2007). *Water Science and Technology* 56(11): 27-34

³ Marsalek J., and Rochfort Q. (2004). *J Toxicology and Env Health, Part A* 67: 1765-1777.

⁴ Godfree A. and Farrell J. (2005). *J Environ Qual.* 34: 105-113.

⁵ **Lucas F.S.**, Bertru G., and Höfle M.G. (2003). *Aquat Microb Ecol.* 32: 165-174.

⁶ **Lucas F.S.**, Moureau B., Jourdie V., and Heeb P. (2005). *Mol Ecol.* 14:639-646.

⁷ Krometis L.A.H., Characklis G.W., Simmons III O.D., et al. (2007). *Water Research* 41: 506-516

⁸ Characklis G.W., Dilts M.J., Simmons III O.D., et al. (2005). *Water Research* 39: 1773-1782

⁹ Rocher V., Paffoni C., Gonçalves A., et al. (2006). *Techniques Sciences et Méthodes* 10 : 105-125.

stages de master 2 (L. Betelli et H. Leroux), un stage CRP de Beauvoir (X. Dussard) et un stage d'ingénieur de l'INSAT de Tunis (H. Boussetta) ont été intégrés dans ce projet.

Tableau 4. Concentrations en microorganismes dans les eaux prétraitées et rejetées de la station d'épuration Seine-Centre (Colombes) en temps sec (n=12). Les cellules totales ont été comptées en épifluorescence après coloration au DAPI, le nombre de copies de génomes de MNT a été évalué par PCR temps réel.

Microorganismes	Eaux prétraitées	Eaux rejetées
Cellules totales .10 ⁸ ml ⁻¹	16,70±7,07	0,15±0,09
<i>Escherichia coli</i> .10 ³ ml ⁻¹	171,16±116,16	0,12±0,08
Entérocoques intestinaux .10 ² ml ⁻¹	155,93,±94,41	0,08±0,12
MNT (copies par ml)	141,25±0,01	<0.25

Nos premiers résultats sur la STEP Seine-Centre en temps sec (2008, n=12) ont montré que les eaux prétraitées arrivant sur le décanteur étaient chargées en bactéries totales et indicateurs de contamination fécale (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux), et contenait de l'ordre de 10² mycobactéries non-tuberculeuses par ml (Tableau 4). Le traitement par la station permettait d'abattre environ 2 à 3 Log, avec une différence notable de comportement entre les mycobactéries et les indicateurs de contamination fécale. Les mycobactéries sont majoritairement abattus par la décantation (> 99 %), alors que *E. coli* sont majoritairement abattus par la biofiltration. Les enterocoques ont un comportement intermédiaire. Les taux d'abattement des cellules totales et des indicateurs fécaux étaient plus élevés dans les biofiltres que dans les décanteurs (Figure 11).

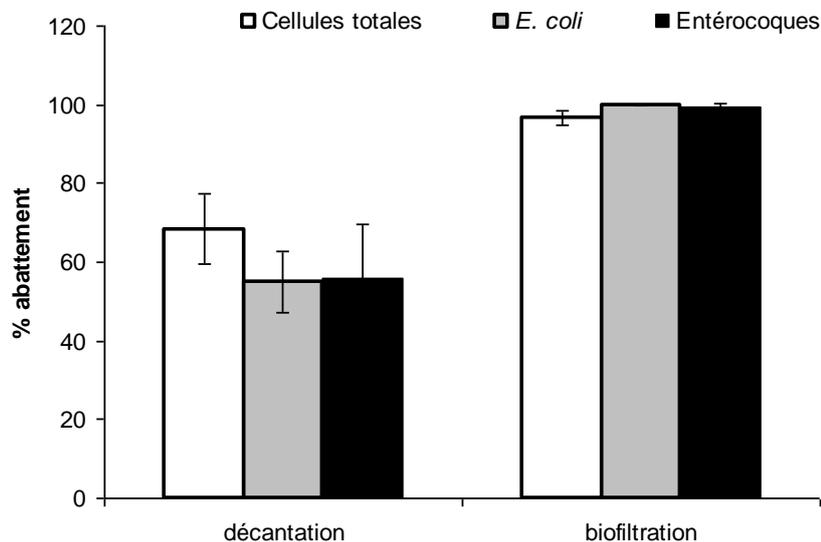


Figure 11. Pourcentage d'abattement des cellules totales (comptage en épifluorescence) et des indicateurs de contamination fécale (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux) par le décanteur accéléré et les biofiltres de la station Seine Centre en temps sec (n=12).

Dans les eaux prétraitées, 85±17 % des cellules totales (Bactéries et archées marquées au DAPI) étaient attachées à des particules sédimentables (fraction séparée par

centrifugation suivant Characklis et al. (1), alors que les indicateurs de contamination fécale étaient moins fréquemment attachés (28 ± 5 % des *E. coli* et 34 ± 16 % des entérocoques). Ces résultats pourraient expliquer les différences de taux d'abattement du décanteur accéléré. A noter qu'une partie des bactéries abattues par le décanteur accéléré est sans doute également constituée de cellules non-sédimentables, attachées à des particules floculables telles que des colloïdes. Selon Characklis et al. (1), la fraction non sédimentable contient essentiellement des microorganismes libres ou attachés à la matière organique de diamètre $< 5 \mu\text{m}$. Les mycobactéries sont très certainement fortement attachées aux particules sédimentables et colloïdes du fait de la nature hydrophobe de leur paroi (2, 3).

Les traitements n'ont pas seulement affecté les densités bactériennes mais aussi la structure et la composition des communautés bactériennes. Comme l'illustre la Figure 12, L'analyse des profils dHPLC des gènes de l'ARNr 16S a montré que la dominance augmentait significativement dans les communautés bactériennes traitées par décantation (Test-t apparié, $n=8$, $p<0.001$) et les profils dHPLC sont significativement différents entre les eaux prétraitées et les eaux traitées (Bray-Curtis distance, Mantel test, $r=0.78$, $p<0.001$).

Ces résultats montrent d'une part que le comportement des bactéries dans les ouvrages de traitement peut différer d'une espèce à une autre et que le comportement d'organismes modèles tels que les indicateurs de contamination fécale n'est pas toujours représentatif du comportement des espèces pathogènes (e.g. *E. coli* vs. *Mycobacterium* spp.). Il pourrait être intéressant d'étudier différents modèles bactériens selon leur degré d'attachement aux particules (fortement, moyennement, peu) et de s'en servir pour prédire le comportement des espèces pathogènes ayant un degré d'attachement similaire. Les résultats montrent également que la décantation, souvent utilisée dans les stratégies de traitement des effluents de temps de pluie, ne permet d'enlever qu'une partie des microorganismes et nécessite un traitement secondaire, voire tertiaire pour les eaux usées.

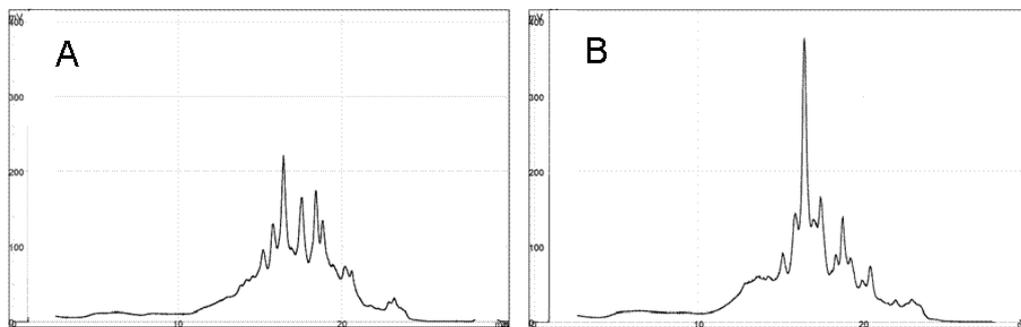


Figure 12. Profils dHPLC du gène de l'ARNr 16S des communautés bactériennes dans les eaux prétraitées (A) et les eaux décantées (B) de la STEP Seine-Centre. Abscisses : temps de rétention (min), ordonnées : unités de fluorescence (marquage au Syber Green)

Ces résultats préliminaires sont en train d'être complétés par le séquençage partiel des gènes ARNr 16S issues des échantillons de temps sec de la station Seine-Centre. L'analyse des séquences d'ADNr 16S devrait permettre de savoir quelles sont les modifications de composition des communautés bactériennes induites par chaque traitement, et ainsi d'identifier des espèces qui pourraient servir d'indicateurs de performance des ouvrages. Cette étude sur le temps sec est en train d'être complétée par une étude similaire sur des échantillons de temps de pluie et de temps sec prélevés sur les stations d'épuration Seine-

¹ Characklis G.W., Dilts M.J., Simmons III O.D., et al. (2005). Water Research 39: 1773-1782

² Alsteens D., Verbelen C., Dague E., et al. (2008). Archiv - European Journal of Physiology 456: 117-125

³ Falkinham III J.O. (2004). In : Pathogenic mycobacteria in water : a guide to public health consequences, monitoring and management. Pedley S., Bartram J., Rees G. et al. (eds), World Health Organization, IWA Publishing, London, UK, p.26-38

Centre et Seine-Amont. Les analyses de temps de pluie devraient permettre de confirmer l'utilité des décanteurs pour le traitement des eaux pluviales, et de mieux caractériser ces effluents de temps de pluie d'un point de vue microbiologique.

Les résultats obtenus ont des implications importantes en termes d'amélioration à long terme de la qualité microbiologique des eaux usées traitées en temps sec ou temps de pluie. En effet à l'heure actuelle, la plupart des modèles utilisés pour développer de nouvelles stratégies de traitement des eaux usées, sont basés sur l'hypothèse que toutes les bactéries sont libres alors que notre étude et plusieurs autres montrent qu'une part significative des microorganismes aquatiques sont associés aux particules et que les traitements n'ont pas la même efficacité vis-à-vis de ces deux groupes de bactéries.

VII. Bilan et perspectives de recherche

Laboratoires	Leesu, UPEC
Acteurs	L. Moulin (Eau de Paris), E. Cambau (CNRMYC, php St Louis, Paris), V. Rocher et A. Goncalvez (SIAAP)
Etudiants	N. Nguyen-Deroche (Postdoctorante, UPEC) N. Radomski (PhD, Leesu, UPEC) L. Baetelli (Master 2 IHA, Leesu, UPEC) H. Leroux (Master 2 IMVI, Leesu, UPEC) X. Dussart (stage CRP, Leesu, UPEC) H. Boussetta (Stage ingénieur INSAT, Leesu, UPEC)
Financements	2005- : Programme OPUR attribué à G . Chebbo 2005- : Programme PIREN attribué à J. M. Mouchel 2008- : Qualico, R2DS Ile de France attribué à M.C ; Gromaire
Publications	Radomski et al. (2010)a, Radomski et al. (2010)b, Radomski et al (in press),

Mes perspectives de recherche sur la qualité microbiologique des eaux urbaines vont porter sur les rejets de microorganismes pathogènes dans les bassins versants et sur la réutilisation des eaux usées et des eaux de ruissellement. A très court terme, deux projets de recherche sur les eaux pluviales sont en cours de mise en place et d'acquisition de données. Le premier porte sur la modélisation de l'impact des rejets de pathogènes en temps de pluie dans le bassin versant de la Seine. Le deuxième projet porte sur la qualité microbiologique des eaux de pluie collectées par les particuliers.

Le premier projet est mis en œuvre dans le cadre du programme de recherche PIREN-Seine. Le modèle PROSE sera adapté pour simuler l'impact des rejets de pathogènes par temps sec et par temps de pluie sur la qualité microbiologique de la Seine. Cette adaptation du modèle va se baser sur les données que nous avons déjà acquises sur les densités d'indicateurs de contamination fécales (Seine-Centre, Bassin de la Seine) et sur des données supplémentaires de temps de pluie qui viennent d'être acquises par une technicienne engagée sur ce projet (L. Lesage). Elle a évalué les quantités d'indicateurs de contamination fécale en temps de pluie arrivant à Seine-Centre et provenant de déversoirs d'orage et de sources diffuses dans le bassin versant de la Seine. Ce projet se fait en collaboration avec M. Poulin et N. Flippo (Sisyphé, Ecole des Mines), P. Servais (UBL, Belgique), A. Goncalvez et V. Rocher (SIAAP).

Le deuxième projet appelé Qualico (DIM R2DS) est réalisé en Ile de France en partenariat avec le Conseil Général du Val de Marne, dans le cadre de l'observatoire des polluants urbains (OPUR). Il vise à étudier la qualité microbiologique des eaux de toitures collectées par les particuliers et à tester si certaines pratiques d'entretien des cuves et des toitures augmentent le risque d'invasion des cuves par des pathogènes. Il s'agit d'une approche interdisciplinaire afin d'évaluer quelle qualité chimique et microbiologique est nécessaire en fonction des pratiques d'entretien des toits et de cuves et en fonction des usages (arrosage, nettoyage des voitures ou des sols, chasse d'eau) susceptibles d'être mis en œuvre par les particuliers. Ce projet est porté par M.C Gromaire (Leesu), et réalisé en collaboration avec B. de Gouvello (Leesu et CSTB), B. Vinçon-Leite (Leesu) et L. Moulin (Eau de Paris), N. Wery (INRA, Narbonne) et F. Huygens (Queensland University of Technology, Australie). Pour l'étude de la qualité microbiologique et l'impact des pratiques d'entretien une postdoctorante N. Nguyen-Deroche a été recrutée. Les analyses microbiologiques des eaux de pluie stockées en cuves externes et en cuve intérieures porteront sur les indicateurs classiques de contamination fécale et sur les *Bacteroidetes*. De plus divers pathogènes (*Salmonella*, *Pseudomonas*, *Campylobacter*, *Legionella*, *Aeromonas*

et mycobactéries non-tuberculeuses) seront aussi quantifiées par culture ou par PCR en temps réel. L'impact des pratiques de maintenance sur l'invasion des communautés bactériennes de diversité croissante sera évalué en microcosme à partir d'échantillons d'eau prélevés en cuve. Deux type de pratiques seront étudiées, d'une part le non renouvellement de l'eau (correspondant à une période sans soutirage, ou à une période sans pluie), d'autre part l'utilisation de biocides dans les cuves (eau de javel) ou sur les toitures (ammonium quaternaire antimousse). La capacité d'invasion d'un pathogène sera évaluée en utilisant une souche *Escherichia coli* marquée par le gène Green Fluorescent Protein (GFP) comme modèle. Les résultats permettront notamment de déterminer si un entretien hygiéniste (chloration de la cuve) est plus pertinent qu'une approche écologique (maintien de la diversité microbienne), en fonction du type de cuve et des usages de l'eau.

A moyen terme, dans le cadre du programme OPUR, mes travaux dans la prochaine phase devraient s'orienter sur la qualité microbiologique des eaux de ruissellement et des eaux usées traitées en vue de leur réutilisation. J'aimerais aussi explorer l'utilité d'indicateurs de contamination fécale mieux adaptés qu'*E. coli* et les entérocoques intestinaux. En se basant sur des techniques de pyroséquençage et PCR quantitatives appliquées sur les eaux usées et pluviales, des indicateurs plus pertinents pourraient être développés (1).

A plus long terme, j'aimerais aussi étudier l'écologie et la diversité des MNT dans les environnements aquatiques. Notamment je souhaiterais développer des études sur la diversité génétique et fonctionnelle de populations de MNT. Par exemple la diversité de *Mycobacterium avium* dans les bassins versants impactés par des élevages et des parcs zoologiques ou bien la diversité de *M. chelonae* dans les usines de potabilisation et les réseaux de distribution. Il serait intéressant d'étudier l'impact des rejets ou des traitements comme force de sélection ou de dispersion sur la structure génétique de ces populations. Une réflexion sur ces thèmes est actuellement en cours avec L. Boscheroli (AFSSA), L. Moulin (Eau de Paris), E. Cambau (CNRMYC) et L. Dupont (Bioemco).

¹ McLellan S.L., Huse S.M., Mueller-Spitz S.R., et al. (2010). *Environmental Microbiology* 12: 378–392

CREATION D'UN LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE

Afin de mener à bien ma recherche j'ai créé au au sein du Leesu un laboratoire de biologie moléculaire et un laboratoire de microbiologie (Figure 13). La mise en place d'un laboratoire opérationnel a nécessité l'achat de verrerie et de petit matériel (pipettes, vortex, électrophorèses, agitateur thermostaté, étuves...), qui ont été complétés par l'achat de plus gros équipements (1 centrifugeuse, 1 autoclave de paillasse, 2 PSM II,, 1 thermocycleur, 1 congélateur -80°C, 2 lecteurs de microplaque, 1 concentrateur d'ADN, des étuves, 1 réfrigérateur et 1 congélateur -20°C). L'enveloppe budgétaire a représenté 61 000 euros, financée par des crédits d'incitation de l'UPEC, des dotations équipement de l'Ecole des Ponts et des projets de recherche (Ville de Paris, Qualico). De plus j'ai bénéficié de matériel déjà présent au Leesu (autoclave, enceintes thermostatées, microscope à épifluorescence équipé d'une caméra, centrifugeuse) et de matériel prêté par l'UMR Bioemco et Eau de Paris (hotte à flux laminaire, système d'imagerie pour électrophorèse). A l'UPEC, j'ai également accès à une dHPLC et à la plateforme génomique de l'IMRB (CHU Henri Mondor, UPEC). Dans un avenir proche, mes projets d'achats porteront sur l'acquisition d'un thermocycleur temps réel, le remplacement du système de d'imagerie pour l'électrophorèse et le remplacement du microscope à épifluorescence. Un projet de plateforme microscopie au sein de l'OSU Efluve est d'ailleurs en cours de réflexion. J'ai également participé à une demande de financement SESAME à la Région Ile de France pour l'achat d'un séquenceur haut débit au CHU Henri Mondor (UPEC).



Figure 13. Laboratoire de biologie moléculaire du Leesu

A côté des aspects équipement, j'ai également constitué une équipe de recherche en écologie microbienne au sein du Leesu en recrutant des étudiants, techniciens et post-doctorants. Avec le recrutement en 2007 d'un doctorant (N. Radomski), et en 2008 d'une post-doctorante (Y. Adolphe) et d'une ATER puis postdoctorante (N. Nguyen-Deroche), j'ai ainsi pu structurer une équipe de microbiologie dans un laboratoire de chimie, d'hydrologie et de modélisation. J'ai également développé des collaborations avec des laboratoires de microbiologie et d'écologie de la région parisienne, ainsi qu'avec la Fédération pour la Recherche sur la Biodiversité. La région Ile de France est le creuset d'une recherche dynamique dans le domaine de l'eau en partenariat avec les acteurs de l'eau (Conseils Généraux, SIAAP, Agence de l'Eau Seine-Normandie, Eau de Paris) dont j'ai pu bénéficier au travers du Leesu (programmes Piren-Seine et OPUR). C'est dans ce cadre stimulant que mes recherches au Leesu se sont mises en place.

FINANCEMENTS ET COLLABORATIONS SCIENTIFIQUES

L'ensemble de ces recherches n'a pu s'effectuer qu'au moyen de soutiens financiers et de collaborations scientifiques.

I. Financements et collaborations entre 1993 et 2005

Dans les années précédant mon recrutement au Leesu, j'ai obtenu différents financements pour participer à des congrès, pour réaliser une partie de ma thèse dans le laboratoire de M. Höfle (GBF, Braunschweig, Allemagne), pour financer les recherches effectuées dans mes laboratoires d'accueil lors des post-doctorats, et pour organiser le premier congrès d'écologie microbienne Suisse:

1993-1995	Bourse de thèse financée par le Ministère de l'Education supérieur et de la Recherche
1993-1996	Participation à des congrès internationaux : 3 subsides de l'Académie des Sciences et du Ministère des Affaires Etrangères (7500 francs)
1995-1996	Bourse de séjour au lab. de M. Höfle (GBF, Braunschweig, DE) : financement de la FEMS (14000 francs)
2001	Participation à un congrès : financement de la Fondation du 450e anniversaire, Canton de Vaux, Suisse (1500 CHF)
2003-2006	Co-requérante du projet: Diagnosis methods, genetic diversity and ecology of the American foulbrood in Switzerland, attribué à P. Heeb, financé par le BVET(173 000 CHF)
2004	Organisation du premier congrès Swiss Microbial Ecology, Neuchâtel, Suisse – financements de la Société Suisse des Sciences Naturelles et Société Suisse de Microbiologie, Sarstedt, Nestlé, Catalyst et Novartis (subsides totaux 9800 CHF)

Au cours de ces années comme doctorante, puis comme chercheur contractuel, j'ai développé de nombreuses collaborations qui m'ont permis de porter mes thématiques de recherche :

- P. Boujon, Institut Galli-Valerio, Lausanne, CH
- L. Fumagalli et S. Regnault, DEE, Univ. Lausanne, CH
- M. Gessner et C. Dang, EAWAG, Kastanienbaum, CH
- M. Monod, département de dermatologie, CHUV de Lausanne, CH
- A. Brandelli, Univ. of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR
- J. Soler et M. Rhuiz, University of Granada, E
- T. Piersma et J. Reneerkens, NIOZ, Texel, NL
- R. Oremland, USGS California, USA
- J. Wiegel, Dept. of Microbiology, UGA, Athens, USA
- M. Höfle, GBF, Braunschweig, DE
- C. Retieres et T. Meziane, Lab. maritime de Dinard, MNHN, F

II. Financements et collaborations depuis 2005

Dès mon arrivée au Leesu en 2005, j'ai obtenu un soutien financier qui m'a permis d'équiper un laboratoire et de recruter une petite équipe en microbiologie et en biologie moléculaire. Ces financements m'ont également permis de payer les salaires et les rémunérations de stage. La thèse de N. Radomski, que je co-encadre, est financée par une allocation de l'Ecole des Ponts. Le salaire de N. Nguyen-Deroche a été assuré sur un demi-poste d'ATER à l'IUT de Créteil de 2008-2009, et un salaire postdoctoral lui est à présent assuré pour 2 ans sur le contrat Qualico. Le salaire d'Ysabelle Adolfe pendant 1 an a été assuré par un contrat financé par la ville de Paris. Le salaire d'assistant ingénieur de Ludivine Lesage est assuré pour 6 mois par le contrat PIREN-Seine.

Des collaborations avec des laboratoires de biologie de l'UPEC, de Eau de Paris et de Bioemco m'ont permis d'obtenir les moyens techniques et financiers pour réaliser mes thématiques de recherches. Les différentes collaborations que j'ai établies au cours de ces dernières années sont les suivantes:

- E. Cambau, CNRMYC, lab. Bacteriologie, H. Saint Louis, Paris,
- A. Goncalvez et V. Rocher, SIAAP, Paris,
- M.C Gromaire, B. de Gouvello, R. Moilleron, J. Gasperi, B. Vinçon-Leite, Leesu
- G. Lacroix, Bioemco, ENS, Paris,
- M. Danger, Université de Metz
- X. Leroux, FRB, Paris,
- S. Pissard, Biochimie Génétique, ap-hop Hôpital Henri Mondor, Créteil,
- L. Moulin et S. Haenn, Eau de Paris, Paris,
- M. Poulin et N. Flippo (Sisyphé, Ecole des Mines)
- Pierre Servais (ULB, Bruxelles)
- J.O. Falkinham (University VirginiaTech, USA)
- M. Behr (University McGill, Canada)
- F. Huygens (Queensland University of Technology, Australia)
- N. Wery (INRA, Narbonne)

Les crédits dont j'ai bénéficiés depuis mon recrutement au Leesu se répartissent entre différentes sources tels que la Ville de Paris, le programme PIREN-Seine, l'observatoire OPUR, l'ANR et les organismes de tutelle du Leesu.

2006 - Faculté de Sciences et Technologie, Paris 12. Soutien à la Recherche, insertion nouveau MCF. Financement de 6000 Euros

2006-2009 - Ville de Paris : co-requérante du projet : Nouveau procédé biologique de traitements des graisses en milieu urbain attribué à L. Moulin (Eau de Paris). Financement de 32 000 euros.

2007-2010 PIREN-Seine : Programme de Recherche Interdisciplinaire sur la Seine. Directeur J.M. Mouchel (UMR Sisyphé, Université Pierre et Marie Curie). Financement 18000 euros/an pour le thème Sources de mycobactéries non-tuberculeuses dans le bassin versant de la Seine (Thèse de N. Radomski).

2007-2011 OPUR : Observatoire des Polluants Urbains, Coordonnateur : G.Chebbo (Leesu). Dans le cadre de la troisième phase d'OPUR, je collabore sur deux projets :

- Qualico, financé par le DIM R2DS de la Région Ile de France, coordonnateur M.C. Gromaire. Financement 260 000 euros

- Le thème OPUR portant sur le comportement des polluants en STEP et SDEP, coordonné par J. Gasperi et moi-même, financé par le SIAAP et la Direction des Services de l'Eau et de l'Assainissement du Val-de-Marne (DSEA 94). 19000 euros/an.

2011-2015. Projet ANR PULSE sur la qualité des lacs en Ile de France. Responsable G. Lacroix (Bioemco, ENS Paris). Financement 1004000 € dont 270000 € pour le Leesu

Ces crédits ont été complétés par des dotations pour l'équipement accordées au Leesu dont j'ai pu bénéficier. Ces dotations proviennent d'une part de l'UPEC et d'autre part de l'Ecole des Ponts.

CONCLUSION

La recherche sur la biodiversité est actuellement une thématique porteuse et dynamique. La description de la diversité s'est particulièrement intensifiée en écologie microbienne grâce aux développements méthodologiques récents tels que le séquençage à haut débit. Cependant l'étude de la biodiversité microbienne reste très descriptive, sans cadre théorique développé. Mon activité de recherche en écologie microbienne s'est déroulée dans ce contexte en partant d'études descriptives (inventaire de la diversité microbienne) pour tendre vers des études plus expérimentales (e.g. diversité des bactéries dans les réseaux trophiques, liens entre diversité et stabilité) s'appuyant sur les théories écologiques. En effet, les théories et connaissances actuelles en écologie peuvent déjà servir de base pour tenter de développer des outils pour la gestion et la protection des écosystèmes.

Depuis mon recrutement au Leesu, j'ai initié une démarche d'application de la recherche fondamentale en écologie microbienne à des problématiques sociétales de gestion de l'eau, démarche que je compte poursuivre dans les années à venir. Mes projets de recherches à court et moyen terme porteront sur l'effet des perturbations multiples, comme les variations de température et les apports en polluants organiques et métalliques, sur la diversité et l'activité bactérienne au sein des réseaux trophiques dans les milieux naturels aquatiques et dans les bioréacteurs. Je souhaite aussi continuer à étudier la qualité microbienne des eaux urbaines en focalisant plus particulièrement sur la problématique de la réutilisation des eaux usées traitées et des eaux de ruissellement. Je souhaiterais d'une part étudier l'écologie et la diversité des mycobactéries non-tuberculeuses et d'autre part étudier l'intérêt des nouveaux indicateurs de contaminations fécales tels que les *Bacteroides*.

Favoriser une interactivité entre les théories écologiques, les avancées méthodologiques en écologie microbienne et les besoins des gestionnaires fait toute l'originalité de mes thématiques de recherche. En effet, les connaissances et théories acquises en écologie présentent une grande importance pour l'industrie et la Société et pour leur évolution vers une production plus propre (1, 2). Mes travaux de recherche au Leesu sur les systèmes de traitement des eaux usées m'ont montré que malgré les différences de langage et d'objectifs entre écologistes et ingénieurs, une collaboration peut être féconde car elle permet de générer des hypothèses et des expériences novatrices en écologie. De plus des programmes et observatoires de recherche comme le PIREN-Seine et OPUR qui sont financés par les collectivités et les acteurs de l'eau, laissent une relative liberté aux scientifiques et n'entravent pas la créativité et la curiosité avec des questions prédéterminées et purement appliquées. En retour, les recherches que nous effectuons au sein de ces programmes pourraient permettre de changer la conception et la gestion des systèmes de traitement ou collecte des eaux, en utilisant le fonctionnement de l'écosystème comme modèle.

Comme le soulignent Daims et al. (3), à long terme seuls les scientifiques formés à la fois en écologie microbienne et en ingénierie seront capables de faire le pont entre ces deux disciplines en vue d'améliorer le traitement des eaux usées et des eaux pluviales. Il y a donc un besoin de combiner ces disciplines dans les cursus de formation, notamment au niveau master. De ce fait je conçois mon activité d'enseignante à l'UPEC en lien direct avec ma recherche en écologie microbienne sur la qualité de l'eau en milieu urbain. En effet, dans le contexte de changements globaux (e.g. pollution, climat, usage du sol), nous avons besoin plus que jamais de comprendre le rôle essentiel des microorganismes dans le maintien des services écosystémiques et également de comprendre comment les écosystèmes sont capables de répondre à une perturbation. De ce fait, la Société a besoin de microbiologistes,

¹ Odum HT. (1971). Environment, power and society. Wiley-Interscience, New-York

² Nielsen N.S. (2007). Journal of Cleaner Production 15: 1639-1653

³ Daims H., Taylor MW., and Wagner M. (2006). Trends in Biotechnology 24: 483-489

de spécialistes en biotechnologie et en écotechnologie, de toxicologues, d'ingénieurs et de techniciens de l'environnement avec une perspective globale et une expérience dans les approches interdisciplinaires. L'enseignement devrait donc être orienté vers l'éducation d'une génération d'individus capables d'être polyvalents, de penser de manière holistique (du génôme au bassin versant) et de travailler dans des équipes multidisciplinaires (Schmidt, 2006). De part ma formation en microbiologie et en écologie je suis particulièrement consciente de ces enjeux, et souhaite continuer à apporter des éléments d'écologie dans les filières de master, cursus d'ingénieurs et dans les enseignements optionnels de licence. Ces activités sont présentées dans la section suivante avec mon *curriculum vitae*.

NOTICE

CURRICULUM VITAE

Françoise, Solange, Marie-Bernard LUCAS

Nationalité Française

Célibataire, née le 3 juin 1970 à Vannes (56)

Maître de Conférences, section 67

Leesu, UMR MA 102, Université Paris Est- AgroParisTech

Adresse 1

Université Paris 12

61 avenue du Général de Gaulle

94 010 Créteil cedex

Tel. : +33(0)145 171 630

Fax : +33(0)145 171 627

e-mail: lucas@u-pec.fr

Adresse 2

Ecole des Ponts- ParisTech

6-8 avenue Blaise Pascal

77455-Marne-la-Vallée cedex 2

Tel. : +33(0)164 153 740

Fax : +33(0)164 153 764

Activités professionnelles

2005-	Maître de conférences , Leesu (Laboratoire Eau, Environnement et Systèmes Urbains), Université Paris Est Créteil, France (Dir. Bruno Tassin)
2004-2005	Chercheur post-doctoral , Dept. Surface Waters, EAWAG, Suisse (Resp. Carsten Schubert)
2001-2004	Première assistante , Institut d'Ecologie et d'Evolution, Université Lausanne, Suisse (Resp. Philip Heeb)
1998-2000	Chercheur post-doctoral , Dept. of Marine Sciences, University of Georgia Athens, USA (Resp. James T. Hollibaugh)

Langues :

- Français: langue maternelle
- Anglais: courant (lu, parlé, écrit)
- Allemand: niveau avancé (lu, parlé, écrit)

Formation

Oct. 1997	Doctorat en Biologie , label Européen, Félicitations du jury Université Rennes I, UMR Ecobio 6553 Titre : Activité et Structure de la communauté bactérienne dans les sédiments colonisés par <i>Nereis diversicolor</i> (O.F. Müller). Directeur de thèse : Georges Bertru Séjour européen: GBF, Braunschweig, Allemagne Resp. Manfred Höfle
Sept. 1993	D.E.A. Biologie des Populations et Eco-éthologie , Université Rennes I, UMR Ecobio 6553
1992	Maîtrise Biologie des Organismes et des Populations , Université Rennes 1
1991	Licence Biologie des Organismes , Université Rennes I
1990	B.T.S.A. Anabiotec , Analyses biologiques Lycée de St Jacut-les-Pins (Malansac, 56)

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

I. Revues internationales à comité de lecture

1. Radomski N., **Lucas F.S.**, Moilleron R., Cambau E., Haenn S., and Moulin L. (2010). Development of a real-time qPCR method for detection and enumeration of *Mycobacterium* spp. in surface water. *Appl. Environ. Microbiol.* 76 : 7348-7351
2. Schubert C.J., **Lucas F.S.**, Durisch-Kaiser E., Stierli R., Diem T., Scheidegger O., and Müller B. (2010). Oxidation and emission of methane in a monomictic lake (Rotsee, Switzerland). *Aquatic Sciences* 72:455–466 .
3. Radomski N., Cambau E., Moulin L., Haenn S., Moilleron R., and **Lucas F.S.** (2010). Isolation of nontuberculous mycobacteria in surface waters: comparison of culture methods. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 3514-3520
4. Ruiz-Rodríguez M., **Lucas F. S.**, Heeb P., and Soler J. J. (2009). Differences in intestinal microbiota between avian brood parasites and their hosts. *Biol. J. Linn. Soc.* 96: 406-414.
5. Ruiz-Rodríguez M, Soler J. J., **Lucas F. S.**, Heeb P., Palacios M. J., Martín-Gálvez D., de Neve L., Pérez-Contreras T., Martínez J. G., and Soler M. (2009). Bacterial diversity at the cloaca predicts immunocompetence and physical condition of magpies and great spotted cuckoo nestlings. *J. Avian Biol.* 40: 42-48
6. Danger M, Daufresne T, **Lucas F.**, Pissard S, and Lacroix G. (2008). Does Liebig's law of the minimum scale up from species to communities? *Oikos* 117: 1741-51
7. Luhering Giongo J., **Lucas F.S.**, Casarin F., Heeb P., Brandelli A. (2007). Keratinolytic proteases of *Bacillus* species isolated from Amazon basin showing remarkable de-hairing activity. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 23: 375-382.
8. Regnaut S., **Lucas FS.** Fumagalli L. (2006). DNA degradation in avian fecal samples and feasibility of non invasive genetic studies of threatened capercaillie population. *Cons. Gen.* 7: 449-453
9. **Lucas FS.**, Heeb P. (2005). Environmental factors shape cloacal bacterial communities in great and blue tit nestlings. *J. avian biol.* 36:510-516
10. **Lucas FS.**, Moureau B., Jourdie V., Heeb P. (2005). Brood size modification affects plumage bacterial assemblages of European starlings. *Mol. Ecol.* 14:639-646.
Couverture du journal pour le mois de février 2005
11. Thys R.C.S., **Lucas FS.**, Riffel A., Heeb P., Brandelli A. (2004). Characterisation of a protease of a feather-degrading *Microbacterium* species. *Lett. Appl. Microbiol.* 39:181-186.
12. **Lucas FS.**, Bertru G., Höfle M.G. (2003). Effect of *Nereis diversicolor* on the distribution and structure of free-living and attached bacteria in salt marsh sediments. *Aquat. Microb. Ecol.* 32:165-174.
13. **Lucas FS.**, Broennimann O., Febraro I., Heeb P. (2003). High diversity among feather-degrading bacteria from a dry meadow soil. *Microbiol. Ecol.* 45:282-290.
14. Riffel A., **Lucas F.**, Heeb P., Brandelli A. (2003). Disintegration of native feather keratin by *Chryseobacterium* sp. *Arch. Microbiol.* 179:258-265.
15. Hoefl SE., **Lucas F.**, Hollibaugh JT., Oremland RS. (2002). Characterization of bacterial arsenate reduction in the anoxic bottom waters of Mono Lake, California. *Geomicrobiol. J.* 19: 23-40
16. **Lucas FS.**, Hollibaugh JT. (2001). Response of sediment bacterial assemblages to selenate and acetate amendments. *Environ. Sci. & Technol.* 35 :528-534.
17. Créach V., **Lucas F.**, Deleu C., Minet J., Bertru G., Mariotti A. (1999) Combination of biomolecular and stable isotope techniques to determine the origin of organic matter used by bacterial community: application to the sediment. *J. Microbiol. Meth.* 38:43-52.
18. **Lucas F.**, Bertru G. (1997) Bacteriolysis in the gut of *Nereis diversicolor* and effect of diet. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 215: 235-245.
19. **Lucas F.**, Meziane T., Bertru G., Retière C. (1996) Bactéries du sédiment: extraction et distribution sur un estran (Baie du Mont St Michel). *C.R.A.S. Serie III.* 319: 537-42.

II. Livres, Revues sans comité de lecture et proceedings

1. Radomski N., Moilleron R., **Lucas F.S.**, and Falkinham III J.O. (in press). Challenges in Environmental Monitoring of Pathogens: Case Study in *Mycobacterium avium*. in: Current Research Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, Microbiology book Series, 2. Ed. A. Méndez-Vilas, Spain.
2. Schubert, CJ; Diem, T; **Lucas, F.**, et al. (2009). Methane emission from a Swiss lake: A full year cycle. 19th Annual VM Goldschmidt Conference, June 21, Davos Switzerland, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 73: A1185-A1185
3. Schubert C. J., **Lucas F. S.**, Durisch-Kaiser E., Diem T., Mueller B. (2007). Aerobic and anaerobic methane oxidation in Lake Rotsee. 12th International Symposium on Water-Rock Interaction Jul. 31-Aug. 05, 2007 Kunming, Rep. of China. Water-Rock interaction, vols 1 et 2, Proceedings : 891-894
4. Fromin N., Hamelin J. **Lucas F.** (2005). Swiss microbial ecology : dynamism and challenges. *Pipette- Swiss laboratory medicine*, 3:16-17
5. **Lucas F.**, Créach V., Bessieres M.-A. (1997). Aquatic Microbial Ecology. *International Biology, the news magazine of the IUBS* 34: 19-21.

III. Communications nationales et internationales (premier auteur)

- | | |
|------|--|
| 2009 | ESM09, Porto, Portugal, Poster
SME09 Einsiedeln, Suisse, Communication orale |
| 2007 | AFEM07, La Grande-Motte, France, Communication orale |
| 2006 | Villèmes JEF, Nouan-le-Fuzellier, France, Poster |
| 2005 | ASLO, Saint Jacques de Compostelle, Espagne, Poster |
| 2004 | SME04, Neuchâtel, Suisse, Poster et Comité organisateur
Congrès Annuel de la SGM-SSM, Lugano, Suisse. Poster |
| 2003 | AFEM03, Carry-Le-Rouet, France. Communication orale |
| 2002 | Xth IUMS congress, Paris, France. Poster |
| 2001 | ISME9, Amsterdam, Pays-Bas. Communication orale et chairperson |
| 1999 | ERF Meeting, New Orleans, LA, USA. Communication orale |
| 1998 | Ocean Science Meeting, San Diego, CA, USA. Poster |
| 1996 | ECSA 26 and ERF 96 symposium, Middelburg, Pays-Bas. Poster
4ème Réunion du Groupe d'Etude d'Ecologie Microbienne des Sols, Lyon, France. Communication orale |
| 1995 | Sixth International Workshop on the Measurement of Microbial Activities in the cycling of Matter in Aquatic Environments, Konstanz, Allemagne. Poster |
| 1994 | International Workshop on the New Approaches in Microbial Ecology, Elsinore, Danemark. Poster
Le Point sur la Microbiologie de l'Environnement (SFM), Paris, France. Poster |

IV. Séminaires, présentations

- 2010 SIAAP, Colombes, France, Séminaire Thème 4, OPUR3
- 2009 SIAAP, Colombes, France, Séminaire Thème 4, OPUR3
- 2008 SIAAP, Colombes, France, Séminaire Thème 4, OPUR3
- 2005 EAWAG, Suisse invitée par E. Kaiser
- 2004 Lab. de Microbiologie, Univ. Neuchatel, Suisse. Invitée par M. Aragno
- 2004 Lab. d'Ecologie, Ecole Normale Supérieure, France. Invitée par M. Loreau
- 2004 Inst. Fondamental de Microbiologie, Univ. Lausanne, Suisse. Invitée par J.R. van der Meer
- 2004 Lab. d'Ecologie moléculaire, Univ. Pau, France. Invitée par P. Goulas
- 2002 Marine Science Dept., Univ. Georgia, USA. Invitée par J.T. Hollibaugh
- 2001 Institut d'écologie, Univ. Lausanne, Suisse. Invitée par P. Heeb
- 2000 Géoscience, Univ. Rennes 1, France. Invitée par G. Gruaud
- 1999 Minisymposium : molecular biology in microbial ecology, UGA, USA
- 1999 Wetland Ecology Team Meeting, Univ. Washington, USA. Invitée par C. A. Simenstad

Bilan des communications :

Type	Nombre
Revue internationale à comité de lecture	19
Revue sans comité de lecture, livres et proceedings	5
Congrès internationaux	10 (7 posters, 3 oraux)
Congrès nationaux	8 (4 posters, 4 oraux)
Séminaires	12
Chairperson dans un congrès	1
Organisateur de congrès	1

ENCRADREMENT SCIENTIFIQUE

À partir de 2000, j'ai co-dirigé ou co-encadré plusieurs doctorants et depuis 2008 j'ai recruté deux postdoctorantes. De plus depuis la fin de ma thèse, j'ai régulièrement encadré des stages d'étudiants. Mes travaux de recherche génèrent des thèmes de recherche intéressants pour des étudiants et des postdoctorants dans les domaines de l'écologie microbienne, de l'écologie des écosystèmes et des sciences de l'environnement et de la santé. En synergie avec mes enseignements, les stages permettent de proposer des sujets de recherche adaptés au niveau d'étude des étudiants, dans le cadre multidisciplinaire offert par le Leesu.

I. Doctorants

Depuis mon recrutement au Leesu, j'ai eu l'occasion de co-diriger deux thèses en microbiologie, dont les directions sont assurées par R. Moilleron (HDR, Professeur de chimie de l'Université Paris-Est Créteil). A. Sonthonnax a été recrutée en 2006 dans le cadre d'un projet financé par la Ville de Paris sur la sélection d'un consortium bactérien capable de dégrader les graisses. Son salaire était assuré par une bourse CIFFRE en partenariat avec Eau de Paris (co-dirigée par L. Moulin). Après des problèmes de santé, elle a décidé d'abandonner sa thèse en début de deuxième année.

J'ai recruté en 2007 N. Radomski pour effectuer une thèse sur les sources de mycobactéries non-tuberculeuses dans les bassins versants (directeur de thèse R. Moilleron, Leesu), en partenariat avec L. Moulin (Eau de Paris) et E. Cambau (CNRMYC, Laboratoire de microbiologie de l'hôpital Saint-Louis, Paris). Le salaire de N. Radomski a été assuré par une allocation de l'Ecole des Ponts-ParisTech, et son travail de recherche a été financé par les programmes PIREN-Seine et OPUR. De plus il a obtenu une allocation de l'Université Paris-Est pour effectuer un séjour de 3 mois au laboratoire du Pr. J. Falkinham (Université Virginia Tech, USA). Deux articles ont été publiés dans *Applied Environmental Microbiology*. Une mini-revue est sous presse dans un livre de la série "Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology". N. Radomski, a participé à plusieurs colloques nationaux et internationaux (réunion de l'AFEM, Congrès de l'European Society of Mycobacteriology, réunion de l'association française de mycobactériologie). A partir de 2008, il a effectué un monitorat à l'IUT de l'Université Paris-Est Créteil (Département de Biologie, dir. L. Thévennet). Sa date de soutenance est prévue pour le 28 février 2011. Les deux rapporteurs sont Christophe Sola de l'université Paris-Sud et Benoit Cournoyer de l'université Claude-Bernard de Lyon.

Ses deux co-directions de thèse s'appuient sur mon expérience d'encadrement au cours de mes postdoctorats. Ainsi j'ai participé à l'encadrement des thèses de M. Ruiz et de B. Moreau à hauteur de 20 %, en apportant mon expertise en écologie microbienne. Ces co-encadrements ont permis de développer une recherche interdisciplinaire originale qui a fait l'objet de plusieurs publications avec les doctorants.

Bilan encadrement de Doctorants

2007-	N. Radomski , Directeur : R. Moilleron, Leesu, UPEC, France 3 publications : Radomski et al. 2010 a,b et c
2002-04	M. Ruiz-Rodriguez , Directeur : J. Soler. Univ. Granada, Espagne 2 publications Ruiz-Rodriguez et al. 2009 a et b
2001-04	B. Moureau , Directeur : P. Heeb. Univ. Lausanne, Suisse 1 publication Lucas et al. 2005

De plus j'ai eu l'occasion d'établir des collaborations avec des doctorants d'autres laboratoires pendant mes postdoctorats (S. Régnault) et depuis mon recrutement au Leesu (M. Danger) qui ont également donné lieu à plusieurs publications.

2006-07	M. Danger , (dirigé par G. Lacroix, Bioemco, ENS, Paris) 1 publication Danger et al. 2008
2004	S. Régnault , (dirigé par L. Fumagali, Département d'Ecologie et d'Evolution, Univ. Lausanne, Suisse) 1 publication Regnault et al. 2006

II. Postdoctorants et ATER

En collaboration avec L. Moulin (Eau de Paris), nous avons recruté en septembre 2008 Y. Adolfe comme postdoctorante. Salariée de Eau de Paris, elle nous a permis de finaliser le contrat de la Ville de Paris sur la dégradation des graisses. Une publication sur la diversité microbienne des séparateurs à graisse est en cours de rédaction.

En novembre 2008, j'ai recruté Nhung Nguyen-Deroche, sur un poste de demi-ATER à l'IUT de l'Université Paris-Est Créteil (département de biologie, dir. L. Thévennet). Outre son service d'enseignement à l'IUT en microbiologie (option ABB, responsable C. Rousseau), elle a étudié l'impact de la structure du réseau trophique sur la diversité bactérienne. Ce travail s'est fait en collaboration avec G. Lacroix (Bioemco, ENS, Paris) et M. Danger (Liebe, Université Paul Verlaine-Metz). Une publication est en cours de rédaction.

En août 2009, N. Nguyen-Deroche a été recrutée comme postdoctorante sur le projet Qualico (financé par le DIM R2DS, dans le cadre du programme OPUR), en vue d'étudier l'impact des pratiques d'entretien des toitures et des cuves sur la qualité microbiologique des eaux de ruissellement collectées par les particuliers.

Bilan encadrement de postdoctorants

2008-09	Y. Adolfe , postdoctorante, Eau de Paris
2008-09	N. Nguyen-Deroche , ATER, IUT de Créteil
2009-	N. Nguyen-Deroche , postdoctorante, Leesu

III. Encadrement d'étudiants

• Etudiants de Master 2 et ingénieurs

Depuis 2004, à l'EAWAG et à l'UPEC j'ai encadré 1 stage d'ingénieur (INSAT, Tunis) et 6 stages de master 2 provenant de différentes filières :

- Master Water Science & Engineering, UNESCO-IHE, Delft, NL
- Master, IHA, Université Versailles-St Quentin
- Master, TES, Université Paris Diderot
- Master IMVI, Université Paris Diderot

Parmi les 6 étudiants de master dont j'ai encadré les stages, deux sont en thèse, et trois sont employés comme ingénieurs. Outre la responsabilité des stages scientifiques cités précédemment, je supervise régulièrement des stages en master 2 SAGE et en master 2 AIR à l'Université Paris-Est Créteil.

- **Projets de recherche-Travaux de modules**

A l'université de Lausanne, les étudiants de troisième et quatrième années réalisent en binôme des projets de recherche appelés travaux de modules. Ils donnent lieu à une présentation écrite et orale et constituent donc une bonne préparation au diplôme de biologie (équivalent du master 2). Parmi les 7 travaux de modules que j'ai encadrés, 2 ont été valorisés par des publications auxquelles ont été associés les étudiants :

2003	I. Py et C. Salamin, Zoologie, Publié dans Régnault et al. 2008
2001	I. Febbraro et O. Broennimann, Zoologie, Publié dans Lucas et al. 2003

- **Stagiaires, étudiants vacataires**

Depuis 1998, J'ai encadré 8 étudiants provenant de différentes formations en France et à l'étranger (University of Georgia, USA et Université de Lausanne, Suisse), du niveau lycée (programme "Women in Biomedicine", Howard Hughes Medical institute, Univ. Georgia, USA), DUT (IUT génie de l'environnement, Toulon), licence 2 (université Paris Sud), ingénieur première année (Ecole des Ponts), au niveau Master 1 (Master SGE). Cette année j'ai formé un stagiaire du CRTP de Beauvoir, travailleur handicapé en réinsertion professionnelle.

Bilan des encadrements scientifiques:

Années	lieu	Diplôme	étudiants
2010	Ecole des Ponts	Ingénieur 3 ^e année	1
2007	Ecole des Ponts	Ingénieur 1 ^{er} année	1
2005-	UPEC	Co-direction de thèse	2
2005-	UPEC	Master 2	4
2004-2005	Eawag	Master 2	1
2000-2004	Univ. Lausanne	Co-encadrement de thèse	2
2000-2004	Univ. Lausanne	Travaux de modules	14
1998-	Univ. Georgia, Univ. Lausanne, UPEC	Lycée, IUT, Licence, CRTP	7

ANIMATION ET RESPONSABILITES SCIENTIFIQUES

I. Membre de comités scientifiques

- 2010 Membre du comité de sélection pour le recrutement d'un Maître de conférences à l'Université Paris-Est Créteil. Poste 35 MCF 0548 au laboratoire LISA.
- 2009 Membre du comité de recrutement pour un poste d'ATER à l'Université Paris-Est Créteil. UFR sciences
- 2008 Membre du jury de recrutement d'un ingénieur d'étude au Cemagref (Antony)
- 2007 Suppléante pour le comité de thèse de M. Rhuis-Rodriguez, Université de Grenade, Espagne
- 2003 Membre du jury du Dipôme de Biologie de M. Gillard (3^e cycle) Univ. Lausanne, Suisse

II. Arbitre de Journaux scientifiques et de Fondations de recherche

En 2005, j'ai eu l'occasion d'expertiser un projet de recherche soumis à l'US National Science foundation. De plus chaque année j'évalue des articles scientifiques soumis à l'un ou l'autre des journaux suivants :

- Microbial Ecology, Springer
- Aquat. Microb. Ecol., Inter-Research
- Water Research, Elsevier
- Environ. Sci. Technol., ACS publication
- Applied Biochemistry and Biotechnology, Humana Press
- Annals of Occupational Hygiene, Oxford Journals
- Journal of Experimental Biology, The Company of Biologists Ltd
- EMU Austral ornithology, CSIRO publishing

Enfin je participe régulièrement à la relecture des articles parus dans un numéro spécial de HAL pour les Journées Scientifiques de l'Environnement organisées par le Master SGE.

III. Membre de sociétés scientifiques:

- Depuis 2009* European Society of Mycobacteriology
- Depuis 2005* Association Francophone d'Ecologie Microbienne
- Depuis 2001* Société Suisse de Microbiologie
- 1998-2001* American Society of Limnology and Oceanography
- 1993-1997* Société Française de Microbiologie

IV. Animation scientifique

Les activités du Leesu sont structurées autour de trois axes de recherche. Depuis 2008, je co-anime l'axe 2 « Fonctionnement et performances des systèmes urbains » avec K. Laffrèchine. Le but de cet axe est de développer des outils scientifiques afin d'évaluer la vulnérabilité et la performance des ouvrages de gestion et des systèmes urbains. L'animation de cet axe comprend l'organisation de séminaires, la circulation d'information scientifique, et la coordination des demandes de financement. Ces activités d'animation ont un rôle structurant pour le fonctionnement du laboratoire et permettent de générer une dynamique intra- et inter-axes. Par ailleurs les animateurs d'axe participent aux réunions du comité de direction élargi du laboratoire. Je suis également co-responsable du thème de recherche 4 du programme OPUR.

Pendant mes post-doctorats, je me suis investie dans l'invitation de chercheurs extérieurs à mon laboratoire d'accueil, contribuant ainsi à tisser des liens scientifiques entre différents groupes de recherche. Pendant mon séjour en Suisse j'ai également activement participé à la mise en place du groupe d'écologie microbienne Suisse (SME), en créant une page web sur le site de la Société Suisse de Microbiologie et en co-organisant avec deux autres post-doctorants (J. Hamelin et N. Fromin) la première réunion SME à Neuchâtel en 2004. Depuis le congrès SME se poursuit régulièrement tous les deux ans. Je me suis d'ailleurs rendue au troisième colloque SME à Einsiedeln en janvier 2009. Voici la liste des différentes activités d'animations réalisées avant mon recrutement au Leesu:

- | | |
|------|---|
| 2011 | Invitation de J.O. Falkinham III (Univ. Virginia Tech, USA) au Leesu, dépôt d'une demande de financement à l'école doctorale SIE pour un cycle de cours doctoraux de 15h. |
| 2005 | Invitation de P. Heeb (Univ. Toulouse) à donner un séminaire à l'EAWAG, Suisse |
| 2005 | Création d'une page web pour le groupe Swiss Microbial Ecology |
| 2005 | Organisation d'une réunion « EAWAG Mikrobiologie » à l'EAWAG, Suisse |
| 2004 | Co-organisation de la première réunion « Swiss Microbial Ecology », Neuchâtel, Suisse, Sept 23-24, |
| 2003 | Invitation de N. Fromin (Univ. Neuchâtel, Suisse) à donner un séminaire au Dept. Microbiologie Fondamentale, Univ. Lausanne, Suisse |
| 1997 | Invitation de J.T. Hollibaugh (Univ. Georgia, USA) à séjourner un mois à l'UMR 6553, Univ. Rennes I. |

ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT

Mes enseignements portent sur diverses disciplines allant du niveau Licence et DUT jusqu'au niveau Master et diplôme d'ingénieur: microbiologie, biochimie, biotechnologie, zoologie, bureautique, statistiques, écologie microbienne, écologie aquatique, écotoxicologie. Ces enseignements dispensés sous forme de cours, travaux dirigés et travaux pratiques visent à préparer les étudiants à l'acquisition d'un savoir faire en vue d'obtenir un diplôme ou de se présenter à des concours pour leur insertion professionnelle.

Toutes les connaissances fondamentales dispensées en licence et à l'IUT servent de base pour étudier la biotechnologie et la gestion de l'environnement et sont donc replacées en Master et cycle ingénieur dans un contexte élargi à la compréhension du fonctionnement et à la gestion des écosystèmes. Ces connaissances permettent de sensibiliser les étudiants de 3^{ème} cycle aux problèmes environnementaux en vue de leur insertion professionnelle dans le monde de la gestion de l'environnement, ou dans le domaine de la recherche en environnement. En effet la gestion des ressources du vivant et des ressources en eau touche à des enjeux sociétaux majeurs aux niveaux national, européen et international. La formation et la sensibilisation de nos étudiants à ces problèmes environnementaux sont donc cruciales à la fois sur le plan personnel et sur le plan professionnel et préparent l'avenir de notre société.

I. Enseignements dispensés entre 1993 et 2005

Durant mon doctorat, j'ai enseigné comme vacataire à l'Université Rennes I. Je participais à l'encadrement des travaux pratiques de mésologie aquatique, d'écologie microbienne et d'écologie appliquée en licence de biologie des organismes (LBO) et en maîtrise de biologie des organismes et des populations (BOP) (Tableau 5). A l'Université de Lausanne, j'ai été recrutée quatre ans par P. Heeb sur un poste de première assistante, financé par la Fondation de Famille Sandoz. J'ai encadré les assistants pour les travaux pratiques de 1^{er} cycle d'anatomie comparée des invertébrés et vertébrés en première année de collège propédeutique (4 salles et 8 assistants). Le volume horaire (heures effectives) représentait 120 h. J'ai également créé deux cours d'écologie microbienne pour le module d'écologie et le module d'évolution et de génétique des populations en 3^{ème} et 4^{ème} années (8 h). Ces nouveaux enseignements apportaient des notions d'écologie microbienne et montraient aux étudiants de deuxième cycle l'originalité d'une approche interdisciplinaire de l'écologie du comportement animal intégrant de l'écologie microbienne.

Tableau 5. Encadrement de travaux pratiques dispensés à l'université Rennes I comme vacataire d'enseignement. Les volumes horaires sont exprimés en heures Travaux Dirigés

Année	H eq. TD	Module	Niveau
1996-97	36	Ecologie Microbienne	Maîtrise BOP
		Ecologie Appliquée	Maîtrise BOP
1994-95	51	Mésologie	LBO
		Ecologie Microbienne	Maîtrise BOP
		Ecologie Appliquée	Maîtrise BOP

II. Enseignements dispensés depuis 2005

J'ai été nommée à l'Université Paris 12 Val de Marne de Créteil (à présent Université Paris-Est Créteil ou UPEC) en novembre 2005, pour y occuper les fonctions de Maître de Conférences sur un poste de la section 67 du CNU. J'ai bénéficié d'une décharge horaire jeune chercheur de 50 h pendant 3 ans. Depuis septembre 2008, j'ai un service de 192 h équivalent TD à effectuer (Tableau 6).

Tableau 6 : Répartition des enseignements par formation et matière depuis 2005. Les enseignements que j'ai créés sont indiqués en gras

date	Formation	Matière
2009-	Licence 2 SCB et 3 SVT, UPEC	Responsable de module Cours, TD, TP : Outils statistiques appliqués à la biologie
2009-	Master 2 TES, AgroParisTech et univ. Paris Diderot	Co-responsable de module Cours, TP : Ecotoxicologie
2009-	Master 2 SGE-MAPE, UPEC, Ecole des Ponts et univ. Paris Diderot	TD: Biodégradation Stage terrain : diagnostique de facade
2008-	Master 2 IBE, UPEC	TD, TP : Ingénierie écologique
2007-	Master 1 SGE, UPEC	Co-responsable de module Pollution, Nuisances et Impacts Cours : Pollution, Santé et Environnement
2007-	Master 2 GTESD, Agro ParisTech	Cours : Modélisation des écosystèmes
2005-	Ingénieur 3 ^e année, ENSTA ParisTech	Cours : Microbiologie des écosystèmes aquatiques
2005-	Ingénieur 2 ^e année, Ecole des Ponts ParisTech,	TP : Mesures et environnement : IBGN
2005-	Master 2 SGE- SAGE, UPEC, Ecole des Ponts, Paris Diderot	TP : Ecologie aquatique Cours : Ecologie microbienne aquatique
2005-	Master 1 SGE, UPEC et univ. Paris Diderot	Cours, TP : option microbiologie
2005-	option libre science, Licence, UPEC	Cours, TD, TP : Biotechnologie enzymatique Cours : Planète biologie : Biodiversité
2005-	Licence 1 sciences et technologie, UPEC	TP : Biochimie
Enseignements débutés en 2005 et terminés en :		
2009	option libre science, Licence, UPEC	Cours : Hygiène et sécurité
2009	DUT 1, option ABB, IUT génie biologique de l'UPEC	TP, TD : Microbiologie
2008	Licence 1 sciences et technologie, UPEC	TP : Bureautique
2007	Licence 2 et 3 SVT, UPEC	TD, TP : Biologie animale

Mes heures de cours sont assurées en licence à la Faculté des Sciences et Technologie de l'UPEC, à l'IUT de biologie de Créteil-Vitry, dans plusieurs formations de master (Science et Gestion de l'Environnement, Ingénierie Biologique pour l'Environnement, GTESD, Toxicologie Environnement et Santé) de l'université Paris-Est et de l'université Diderot, et dans les formations ingénieurs du PRES Paris-Tech (J'ai été nommée à l'Université Paris 12 Val de Marne de Créteil (à présent Université Paris-Est Créteil ou UPEC) en novembre 2005, pour y occuper les fonctions de Maître de Conférences sur un poste de la section 67 du CNU. J'ai bénéficié d'une décharge horaire jeune chercheur de 50 h pendant 3 ans. Depuis septembre 2008, j'ai un service de 192 h équivalent TD à effectuer (Tableau 6).

Tableau 6). La majorité de mon enseignement est réalisé à l'UFR Sciences (97%). Les cours et TP dispensés dans le PRES ParisTech sont donnés à l'Ecole Nationale des Sciences et Techniques Appliquées (ENSTA), à l'Agro ParisTech-ENGREF, et à l'Ecole des Ponts ParisTech. L'Ecole des Ponts et l'université Paris-Est Créteil font partie des membres fondateurs de l'Université Paris-Est (PRES). De plus l'Ecole des Ponts-ParisTech est co-habituée avec l'Université Paris-Est Créteil pour le master 2 SAGE et fait partie des tutelles du Leesu.

Dans le cadre de mes activités d'enseignement, j'interviens dans différentes filières et différents modules depuis le niveau IUT et licence jusqu'au niveau master (J'ai été nommée à l'Université Paris 12 Val de Marne de Créteil (à présent Université Paris-Est Créteil ou UPEC) en novembre 2005, pour y occuper les fonctions de Maître de Conférences sur un poste de la section 67 du CNU. J'ai bénéficié d'une décharge horaire jeune chercheur de 50 h pendant 3 ans. Depuis septembre 2008, j'ai un service de 192 h équivalent TD à effectuer (Tableau 6).

Tableau 6). Pour une partie des TP que je dispense, j'ai intégré des équipes et programmes pédagogiques déjà en place. Pour le reste des TP, TD et cours, j'ai conçu de nouveaux enseignements dans des filières nouvellement créées dans le cadre du LMD et dans des filières déjà existantes (Tableau 6).

III. Responsabilités

Depuis 2007 je suis co-responsable avec S. Alfaro (LISA, UPEC) du module Pollutions, Nuisances et Impacts du Master 1 SGE à l'université Paris-Est Créteil. Je supervise les enseignements pour la partie Pollution, Santé et Environnement avec 3 ECTS, et 4 intervenants de Paris-Est Créteil et de Paris Diderot.

Depuis la rentrée 2009, je suis co-responsable avec V. Camel (Agro ParisTech) de l'UE optionnelle Ecotoxicologie pour le master 2 TES (Toxicologie Environnement Santé) à l'université Paris Diderot et l'Ecole AgroParisTech. L'UE comprend 3 ECTS et 5 intervenants de l'UPEC, de l'école AgroParisTech, de Eau de Paris, du DRIEA- CETE Ile de France, de l'ADEME, et de l'ONEMA, de l'INRA Versailles-St Quentin.

A la rentrée 2009, j'ai également pris la responsabilité de deux modules d'enseignement sur les outils statistiques appliqués à la biologie et à la chimie en L3-SVT et en L2-SCB. Dans chacune de ces deux licences, je supervise 3 ECTS avec une intervenante de l'UPEC et 4 vacataires.

GLOSSAIRE

Biotechnologie environnementale : développement, utilisation et régulation des systèmes biologiques pour la remédiation des environnements contaminés (sol, air, eau) et pour des procédés respectueux de l'environnement

Composition microbienne : la richesse, l'abondance relative et la structure phylogénétique des taxons dans un assemblage.

Communauté : ensemble d'espèces vivants dans le même habitat et susceptibles d'interagir entre elles.

Eaux usées : eaux altérées par les activités humaines à la suite d'un usage domestique, industriel, artisanal, agricole ou autre.

Eaux grises : eaux usées peu chargées en matières polluantes, par exemple les eaux d'origine domestique, résultant du lavage de la vaisselle, des mains, des bains ou des douches.

Ecologie : étude de la distribution et l'abondance des organismes et de leurs interactions biotiques et abiotiques dans des conditions environnementales données.

Écosystème : ensemble de populations regroupées en compartiments définis selon une base fonctionnelle, entre lesquels circulent des flux d'énergie et de matière.

Fitness : mesure du succès reproducteur à travers les générations successives

Fonctionnement de l'écosystème : ensemble des processus liés aux flux de matière et d'énergie dans cet écosystème, incluant les apports, transferts (production, recyclage) et pertes de matière.

Groupe fonctionnel : tous les organismes qui contribuent directement au niveau d'un processus fonctionnel particulier dans un écosystème.

Niche écologique : la niche écologique détermine la position d'une espèce dans un écosystème ainsi que les conditions nécessaires à sa survie dans ce milieu. La position concerne aussi bien l'habitat de cette espèce que le rôle qu'elle joue sur le plan trophique. Les conditions représentent l'ensemble des facteurs constituant le milieu qui permettent à une espèce de vivre, se nourrir, se reproduire et ainsi assurer le maintien de l'espèce dans le biotope.

Perturbation : facteur abiotique (physique, chimique) ou biotique (biologique) variable qui excède son étendue de variation normale et affecte négativement la physiologie des individus ou la performance d'une population de manière statistiquement significative. On parlera de stress environnemental lorsque l'effet négatif est continu.

Processus de l'écosystème : flux et processus intrinsèques par lesquels l'écosystème maintient son intégrité (comme la production primaire, les transferts trophiques des plantes vers les animaux, la décomposition et le recyclage des nutriments, l'évapotranspiration, ...).

Redondance fonctionnelle : la capacité d'un taxon à supporter un processus au même niveau qu'un autre taxon sous les mêmes conditions environnementales.

Réseau trophique : ensemble d'espèces connectées par des interactions trophiques

Résilience : Capacité à revenir au niveau de processus avant perturbation

Résistance : capacité à maintenir le niveau d'un processus inchangé face à une perturbation.

Richesse spécifique : nombre de taxons différents.

Services écosystémiques: bénéfiques procurés par les écosystèmes qui contribuent à rendre la vie humaine possible et agréable. Les services écosystémiques sont dépendants du contexte; le même processus de l'écosystème peut produire un service écosystémique qui a une haute valeur pour une société humaine ou un groupe humain et une valeur faible pour un autre groupe ou une autre société. Certains services écosystémiques impliquent un apport direct de produits matériels ou non-matériels et sont associés directement avec la présence d'espèces particulières de plantes, d'animaux ou de microorganismes (ex. nourriture, bois, médicaments, matériel rituel). D'autres services écosystémiques émergent soit directement ou indirectement du fonctionnement continu des processus de l'écosystème. Par exemple les services de formation, rétention, soutien de la fertilité des sols nécessaires pour la production de plantes et d'animaux considérés importants par différentes sociétés humaines dépendent des processus de décomposition, de recyclage des nutriments par les microorganismes, et de rétention de l'eau et des particules de sol par le réseau racinaire. Certains auteurs préfèrent une définition restreinte des services écosystémiques comme étant les composants de la nature qui sont directement utilisés, consommés, ou profitables en vue de maintenir ou d'améliorer le bien-être des humains.

Taxon : groupe d'organismes phylogénétiquement proches.