



**MILIEUX EXTREMES:  
CONDITIONS DE VIE EN MILIEU ALPIN ET MILIEU MARIN**

Sous la responsabilité de  
Raffaele Peduzzi, Mauro Tonolla et Renata Boucher-Rodoni

Avec la participation de:

Bachofen Reinhard	Horat Thomas
Bischoff Yannik	Joannot Pascale
Bodiou Jean-Yves	Neu Thomas
Boucher Guy	Schanz Ferdinand
Fiala-Médioni Aline	Suntornvongsagul Kallaya
Hahn Dittmar	



*Ranunculus glacialis*. Foto: Raffaele Peduzzi

(PIORA) MILIEUX EXTREMES: CONDITIONS DE VIE EN MILIEU ALPIN ET MILIEU MARIN

**MILIEUX EXTREMES: CONDITIONS DE VIE  
EN MILIEU ALPIN ET MILIEU MARIN**

sous la responsabilité de  
Raffaele Peduzzi, Mauro Tonolla et Renata Boucher-Rodoni



Il Pettazzurro (*Luscinia svecica svecica*) di Piora. Foto: Aldo Cereda



ISSN 1424-4993

Ecole doctorale en microbiologie  
Piora, 2003-2005

Triangle Azur  
Universités de Genève Neuchâtel Lausanne

Actes et contributions scientifiques

**MILIEUX EXTREMES: CONDITIONS  
DE VIE EN MILIEU ALPIN ET  
MILIEU MARIN**

*sous la responsabilité de  
Raffaele Peduzzi, Mauro Tonolla et Renata Boucher-Rodoni*

Grafica e stampa: Dazzi SA - Tipografia  
CH-6747 Chironico

(c) 2006 Edizioni Centro Biologia Alpina di Piora,  
c/o Istituto Cantonale di Microbiologia, Via Mirasole 22A  
6500 Bellinzona

ISSN 1424-4993

Edizioni Centro Biologia Alpina  
Piora, 2006

## Avant propos

C'est à l'occasion d'un séjour à Banyuls-sur-mer qu'a surgi l'idée d'un stage de Biologie de l'Extrême, qui propose un rapprochement entre les conditions de vie en milieu alpin et en milieu marin, en particulier dans les fosses marines. Quelles sont les adaptations à la vie à -2000m et à +2000m? Le gorge-bleu, en couverture, symbolise cette recherche des points communs entre biologie alpine et biologie marine. Cet oiseau niche dans les pays scandinaves, mais occasionnellement aussi dans les Alpes, en particulier à Piora, et dans sa migration vers l'Afrique du Nord, il passe par Banyuls! Comme le gorge bleu nous avons choisi de « nicher » le stage de Biologie de l'Extrême à Piora, à 2000m d'altitude et d'y inviter des intervenants du milieu alpin et du milieu marin.

La station Alpine de Piora est située en haute altitude (2000m), accessible uniquement pendant les mois d'été, donc en milieu extrême! Elle se trouve dans la région du St Gothard, qui a joué un rôle important dans le développement des sciences naturelles depuis deux siècles. L'impact scientifique des recherches dans cette région est rappelé en préambule (chapitre II). La station de Piora se situe au bord du lac de Cadagno, l'un des derniers lacs alpins méromictiques crénogéniques, qui est toujours un modèle d'étude des adaptations à ce type de milieu extrême, si particulier (chapitre 3A). Différents aspects de la vie en milieu inhospitalier sont ensuite envisagés: la neige, les roches, les sédiments marins (chapitre IIIB, C, D). Mais les milieux extrêmes ne sont pas toujours là où les conditions sont les plus inhospitalières. Nous pouvons artificiellement créer des conditions de vie difficiles en changeant l'environnement habituel des organismes, c'est le cas de la vie en captivité. Cet exemple est illustré par l'adaptation des organismes marins en aquarium, leur changement de comportement et parfois de physiologie (chapitre IIIE). Enfin, une solution adoptée par de nombreux organismes, dans les milieux extrêmes mais aussi dans les milieux hospitaliers : l'association symbiotique (chapitre IV). Les organismes s'associent pour gérer leur vie quotidienne. Deux exemples sont illustrés ici, celui de l'association avec l'actinomycète *Frankia*, symbiote permettant la croissance des plantes dans des sols pauvres en azote, et les spectaculaires écosystèmes à base chimiosynthétique permettant la survie des eucaryotes dans les environnements extrêmes de l'océan abyssal grâce à l'association avec des bactéries symbiotiques.

# Sommaire

<b>I. Introduction</b>	<b>9</b>
<b>II. L'apport de la recherche dans un milieu extrême à la science européenne: la région du St. Gothard &amp; le val Piora</b>	<b>13</b>
<i>Peduzzi Raffaele &amp; Boucher-Rodoni Renata</i>	
<b>III. Les adaptations aux conditions extrêmes</b>	<b>21</b>
<b>A. Tonolla Mauro &amp; Peduzzi Raffaele</b>	
Lake Cadagno, a Model for Microbial Ecology	
<b>B. Bischoff Yannik</b> - Ecologie nivale	<b>53</b>
<b>C. Bachofen Reinhard, Horat Thomas, Neu Thomas &amp; Schanz Ferdinand</b>	<b>61</b>
Endolitic biofilms - prototrophic microbial communities Inhabiting rocks	
<b>D. Bodiou Jean-Yves &amp; Boucher Guy</b>	<b>71</b>
Biologie de l'extrême en milieu marin (la méiofaune benthique)	
<b>E. Joannot Pascale</b>	<b>83</b>
Adaptation de certains organismes récifaux en milieu confiné	
<b>IV. La solution de l'association symbiotique</b>	<b>111</b>
<b>A. Hahn Dittmar &amp; Suntornvongsagul Kallaya</b>	
Competitive ability for nodulation of <i>Alnus glutinosa</i> plants by <i>Frankia</i> strains inoculated into soil with indigenous <i>Frankia</i> populations	
<b>B. Fiala-Médioni Aline</b>	<b>119</b>
Ecosystèmes à base chimiosynthétique	
<b>V. Conclusion générale</b>	<b>129</b>

# I. Introduction

Les formes de vie sur Terre sont innombrables, comme les environnements qui les abritent. Jusqu'au 20<sup>e</sup> siècle, on pensait que la vie n'était possible que dans un environnement « normal », c'est-à-dire là où les conditions sont compatibles avec la vie de l'homme. Puis, les chercheurs ont commencé à trouver des organismes qui survivent dans des conditions hors de ces normes, dans des milieux caractérisés par des conditions physiques et/ou chimiques extrêmes de température, de pH, de pression, où l'oxygène est rare et la composition chimique de l'environnement proche est toxique. Le nombre d'organismes, procaryotes et eucaryotes, identifiés dans ces milieux extrêmes augmente rapidement.

Mais dans les conditions abiotiques extrêmes la diversité spécifique est généralement faible et la chaîne trophique simplifiée. De tels environnements provoquent souvent l'extinction des eucaryotes, alors que des micro-organismes viables ont été mis en évidence dans des sources chaudes acides, enterrés dans des anciens permafrost, à l'intérieur de roches volcaniques, dans des lacs hypersalés et alcalins, souvent méromictiques, accumulant de fortes concentrations de substances toxiques sur le fond. On a même trouvé des bactéries dans des réacteurs nucléaires.

Les solutions pour la survie de ces organismes sont variées: adaptation des processus physiologiques, mise en veille en attendant des conditions meilleures, symbiose (on fait appel à un partenaire mieux adapté).

Les endroits les plus froids sur Terre sont les pôles. La température de l'eau est d'environ  $-2^{\circ}\text{C}$ . En 1998, deux chercheurs étudiant les organismes emprisonnés dans de la glace ancienne ont trouvé des formes de vie variées : champignons, algues, bactéries, diatomées, spores, grains de pollen plus quelques étranges formes non encore connues.

Certaines des bactéries sont des cyanobactéries avec des nanobactéries associées.

En gelant, les microorganismes se mettent dans un état anabiotique, vivants mais inactifs. La reprise des activités métaboliques est possible lorsque les conditions redeviennent favorables.

La réduction de la couverture glaciaire dans les régions polaires et alpines, liée aux changements rapides des conditions environnementales menace la survie de certaines formes de vie dépendantes de la glace. Or, les activités de ces communautés en milieu marin, lacustre, glaciaire et dans le permafrost ont des contributions importantes dans les cycles biogéochimiques, avec des interactions entre terre, mer et atmosphère.

Dans l'océan c'est dans les environnements dit « modérés », avec un pH à peu près neutre, des températures de 10 à 30°C, des pressions de 1 atm, et des concentrations adéquates de nutriments et de sels que les organismes sont le plus abondants. Dans l'océan profond, les conditions de vie deviennent difficiles car les organismes doivent survivre à des hautes pressions, de basses températures, à l'absence de lumière et ne pas être obligatoirement aérobique. L'environnement profond devient encore plus extrême dans les régions géologiquement actives, le long des crêtes océaniques, au niveau des sources hydrothermales. Là on trouve les mêmes particularités que dans le milieu océanique profond, avec en plus des conditions phy-

siques et chimiques créées par la biogéochimie de la colonne d'eau, les échanges de chaleur et l'activité magmatique dans la croûte, et les interactions fluide-roche au niveau du fond. Les organismes qui y vivent doivent être thermophiles, barotolérants et chemosynthétiques. Leur survie est souvent liée à une association symbiotique avec des bactéries. Ces associations ont des implications importantes évolutives, écologiques, géochimiques, minéralogiques. Il faut noter en effet que différentes associations symbiotiques ont façonné la vie telle que nous la vivons aujourd'hui. Des symbioses entre bactéries et unicellulaires ont été cruciales pour la diversification et l'évolution des eucaryotes.

Dans les sources chaudes la situation ressemble un peu à celle des sources hydrothermales, mais avec une localisation différente : des produits chimiques (soufre, méthane...) arrivent par convection en surface où l'eau est chauffée par des processus géologiques dans la croûte terrestre. La température est en moyenne de 50-80°C, mais peut atteindre 100°C. Dans les années 60, Thomas Brock découvre des bactéries pouvant vivre et se reproduire à près de 100°C dans des sources chaudes à Yellowstone. Ces organismes ont provoqué une véritable révolution dans la recherche scientifique : leurs enzymes fonctionnent à des températures élevées, et ont permis la découverte de la TAQ polymerase, l'enzyme essentielle de la PCR, la technique qui a permis le spectaculaire essor des études de biologie moléculaire.

Jusqu'à présent on admettait généralement que la vie, et en particulier la vie microbienne, n'occupait pas des strates inférieures à quelques dizaines de mètres dans la croûte terrestre. Or, il a été montré que des bactéries peuvent vivre des kilomètres sous la surface de la Terre, se nourrissant de pierres et d'eau, en extrayant de l'énergie par réactions chimiques plutôt que du soleil (endolithes). De même, des microbes se nourrissant de pierre vivent à plus d'un km sous le fond océanique. Il a d'ailleurs été suggéré que la quantité de biomasse à l'intérieur de la terre est aussi importante sinon plus importante que dans ce que nous considérons traditionnellement la biosphère.

Les organismes qui survivent actuellement dans des conditions extrêmes détiennent peut-être la clé de la vie sur la Terre primitive, ainsi que l'évolution des processus biogéochimiques.

La Terre est vieille de 4.5 milliards d'années. La vie est d'abord apparue sur Terre sous forme d'organismes microscopiques, il y a plus de 3 milliards d'années. Mais les organismes eucaryotes ne sont présents que depuis peu, car il a fallu des milliards d'années avant que les conditions de vie permettent l'apparition des plantes et des animaux. En effet, à l'origine l'atmosphère était réduite et composée de gaz toxiques provenant d'activités volcaniques continues, avec une radioactivité très forte, des bombardements de météorites réguliers et pas de couche d'ozone protectrice du rayonnement solaire. L'oxygène était rare et un poison pour les premiers organismes vivants. Seuls des organismes semblables à des micro-organismes thermophiles auraient pu éventuellement survivre à ces conditions. Du fait que ces organismes vivent actuellement dans des conditions extrêmes proches des débuts de la vie sur Terre, là où aucune autre forme de vie ne semble possible, beaucoup de chercheurs pensent qu'ils sont à l'origine de la vie.

Les hyperthermophiles peuvent utiliser du fer pour métaboliser leur nourriture, et

convertissent l'oxyde de fer en magnétite. Les géologues ont trouvé de fortes accumulations de magnétite dans la Terre primitive, profondément sous la croûte terrestre (et dans un météorite de Mars...). De ce fait, et en accord avec les découvertes récentes mettant en évidence l'existence d'une vie possible et d'une nouvelle biosphère à l'intérieur de la Terre, certains chercheurs pensent que la vie s'est d'abord réfugiée dans la biosphère profonde, en attendant des conditions plus favorables.

Les bactéries aimant les extrêmes et d'autres organismes extrémophiles prouvent aux scientifiques qu'il y a un surprenant éventail de conditions où des formes de vie sont possibles. Cela soulève inévitablement des espoirs de trouver de la vie ailleurs dans l'univers. L'un des survivants les plus surprenants de conditions extrêmes est probablement la bactérie commune *Streptococcus mitis*. Une petite colonie de cette bactérie s'est rendue sur la Lune à bord de Surveyor 3, cachée dans une caméra TV. Trois ans plus tard Apollo 12 a ramené la caméra sur Terre : les bactéries étaient encore viables. Elles avaient survécu au lancement spatial, à une congélation à des températures proches de -250°C, à 3 ans de vide absolu, sans eau ni nourriture.

Des endroits comme les régions polaires de Mars ou les océans des lunes de Jupiter que l'on considérait comme trop extrêmes pour la vie, sont à présents des candidats à la découverte d'une vie extra-terrestre pour de nombreux scientifiques américains. La découverte d'organismes vivant dans des conditions extrêmes a bouleversé notre conception des conditions nécessaires à la vie des organismes et au déroulement des processus biochimiques. On peut se demander s'il reste des milieux où la vie est impossible.

## **II. L'apport de la recherche dans un milieu extrême à la science européenne: la région du St. Gothard & le val Piora**

***Peduzzi Raffaele & Boucher-Rodoni Renata***

Le 18 et 19<sup>e</sup> siècle ont été marqués par nombre d'explorations scientifiques, dans les domaines les plus divers: voyages de circumnavigation pour découvrir de nouvelles terres et de nouvelles faunes et flores, voyages dans l'Amérique équatoriale pour le calcul du méridien... A l'échelle européenne aussi, on découvre, on décrit, on analyse avec de plus en plus de précision le cadre de la nature.

Cette dynamique de développement des connaissances est très vivace en Suisse, dans la région lémanique et dans certaines régions alpines, en particulier dans la région du massif du St. Gothard. Dès 1705, J.J.Scheuchzer, le premier scientifique qui voyageait avec des instruments de physique, effectua des observations dans l'alpage de Piora. Un peu plus tard, en 1728 le fameux botaniste Albrecht von Haller explora la région du St Gothard.

C'est aussi au XVIII<sup>e</sup> siècle que le genevois H.B. De Saussure, considéré comme l'un des fondateurs de la géologie, donne la première description naturaliste du Léman, en 1779. Au même De Saussure, surnommé "l'homme possédé par la montagne", on doit aussi une des premières descriptions scientifiques de la région alpine. Il visita la région de la haute Leventine entre 1779 et 1796 et écrivit "Excursions et récits sur la région du Gothard" dans son célèbre ouvrage "Voyages dans les Alpes", où il affirmait "la fréquentation passionnée des montagnes agrandit les perspectives du scientifique". A la même époque, E.Pini (1783), professeur de chimie et minéralogie à l'Université de Milan, publia un mémoire sur la minéralogie de la région du St Gothard.

Cela permettra à E. Motta, 1855-1920 de définir le XVIII<sup>e</sup> siècle comme un... "siècle caractérisé par le grand nombre de naturalistes arrivés pour étudier le Saint Gothard".

### **Signification des lacs alpins tessinois à la naissance de l'écologie limnologique**

Plus tard, à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, c'est sur les bords du lac Léman que naît une nouvelle science, la limnologie, l'océanographie des lacs comme la définit son fondateur, le scientifique vaudois F.A. Forel (1892, 1896, 1904).



Mais si l'apport de Forel (1841-1912) comme fondateur de la limnologie est bien reconnu (Bertola, 1998), il n'est cependant pas le seul à avoir manipulé ces concepts. Des travaux effectués à la même époque dans la région de Piora par d'autres scientifiques moins connus (Fuhrmann, 1897; Bourcart, 1906; Garwood, 1906; Collet et al., 1918; Düggele, 1919; Borner, 1920, 1928; Bachmann, 1924; etc...) ont aussi contribué notablement à l'affirmation de la limnologie comme science au début du XXe siècle. En effet, dès la naissance de cette science de synthèse, une région riche en eau, le massif du St Gothard, la « mater fluviorum » européenne (Fig. 1), et notamment le Val Piora, a été prise comme écosystème hydrobiologique modèle.



Fig. 1 Le Saint Gothard ligne européenne de partage des eaux; représentation allégorique (gravure de Johann Melchior Füssli, vers 1770)

En effet, la Société Helvétique des Sciences Naturelles, en 1915, lance un programme de grande envergure destiné à l'étude de cette région, avec la motivation suivante:

"Cette zone est une région alpine par excellence, bien délimitée géographiquement. Elle présente une diversité idéale qui passe des petits ruisseaux aux cours d'eau à débits importants, des nombreux marécages aux lacs alpins relativement profonds. Nous proposons le Val Piora ainsi que ses vallées latérales (Val Cadlimo, Val Canaria et Val Termine) qui, mis ensemble, comprennent 21 lacs, 28 étangs, 14 marécages et 58 cours d'eau".

Le document élaboré par Société Helvétique des Sciences Naturelles (ancienne dénomination de l'Académie Suisse des Sciences Naturelles, ASSN) fournissait les détails concernant les ressources hydrologiques de la région:

	Lacs	Etangs	Marécages	Cours d'eau	Total
Val Piora	11	4	8	27	<b>50</b>
Val Canaria	3	2	1	6	<b>12</b>
Val Cadlimo	3	12	0	11	<b>26</b>
Val Termine	-	2	0	2	<b>4</b>
Val S.ta Maria	2	8	4	9	<b>23</b>
Leventina	2	-	1	3	<b>6</b>
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>28</b>	<b>14</b>	<b>58</b>	<b>121</b>

Pour ce programme de recherche, l'essentiel des études ont été conduites dans le Val Piora. Elles ont duré de la première guerre mondiale aux années '50 et ont analysé tous les aspects de la biologie de l'eau dans une série de travaux fondamentaux publiés par la Revue Suisse d'Hydrologie, l'actuel « Aquatic Sciences ».

Ainsi, dès la naissance de la biologie des eaux douces comme discipline en Europe, la région de Piora a servi de base pour des travaux de recherche dont il faut souligner la systémicité et l'originalité. En effet, les travaux considèrent dans une analyse synthétique, toutes les disciplines de l'étude des eaux, allant de la limnobactériologie (Düggele, 1919), la faune aquatique (Borner, 1928), la dynamique du plancton (Borner, 1920).

### Les sciences de l'ingénieur, un défi scientifique d'hier et d'aujourd'hui

Outre les études naturalistes encouragées par l'Académie Suisse des Sciences naturelles, la décision fédérale du premier percement d'un tunnel sous le St Gothard (1872-1882) va créer une dynamique de recherches dans les domaines les plus variés et parfois inattendus.

Pays alpin situé au coeur de l'Europe et sur les grands axes de communication Nord-Sud, Est-Ouest, la Suisse s'est attaquée dès la seconde moitié du XIXe siècle au percement de tunnels pour faciliter les communications en toute saison, dans la mesure où les progrès technologiques de l'époque ont permis d'envisager de telles réalisations. De plus, avec les premiers percements ferroviaires, il a fallu trouver la solution de problèmes complexes inhérents aux transversales alpines, ce qui a généré une série de travaux importants de recherche et un notable progrès des connaissances (Motta, 1882).

En effet, parallèlement et en association avec le développement des techniques de l'ingénieur, toute une série de travaux fondamentaux ont également vu le jour, dans

tous les domaines. Le moteur de ces travaux est le désir de faire progresser les connaissances fondamentales dans tous les domaines, et ces progrès se sont souvent accompagnés de progrès technologiques.

Ainsi, un grand chercheur suisse voit son nom associé à cet ouvrage colossal pour l'époque : J.D.Colladon (1880), grand scientifique genevois, collaborateur d'Ampère, dont le nom est indissociable de la création de l'Ecole Centrale de Paris, membre du Comité pour la construction du tunnel sous la Manche déjà en projet à cette époque. C'est à l'occasion du percement du tunnel du St Gothard que Colladon, en tant qu'ingénieur conseil de l'entreprise Favre de Genève, va faire la preuve définitive et incontestée de l'efficacité de son procédé à air comprimé pour le percement du tunnel (Benguigui, 1994; Buscaglia, 2000).

Un tel percement implique une perte d'eau, et en particulier l'assèchement de sources. Tel a été le cas lors du premier percement du St Gothard (1872-1882). Mais la Compagnie du Gothard "Gothardbahn" (fondée à Lucerne le 6 décembre 1871) a substitué la perte de ces sources par la réactivation de points d'eaux. En outre la même Compagnie a entrepris la construction du barrage du Ritom (1914-1918). En effet, pendant la première guerre mondiale, pour pallier au manque de matière première (charbon en particulier), la décision d'électrification de la ligne a été prise d'où la nécessité de construire une digue au lac Ritom, ce qui a permis l'alimentation en énergie électrique de la ligne ferroviaire de l'axe nord-sud européen à partir des années 20.

La conséquence hydrobiologique importante de ce barrage a été la perte de l'état méromictique crénogénique (eaux de surface et du fond ne se mélangeant pas) du lac Ritom (Dussart, 1966 ; Tonolli, 1969). Cet état est fort heureusement encore présent dans le lac de Cadagno, voisin du Ritom. Le fond du lac se caractérise par des sources salines, sulfureuses. Le soufre pouvant être dangereux pour les canalisations déjà lors du barrage du Ritom le phénomène a été étudié de façon très approfondie, car on craignait la corrosion de la conduite forcée (Collet et al., 1918).

### **Les enseignements sur l'étiologie et le traitement de la maladie des mineurs**

Le percement du tunnel s'est aussi accompagné de nombreux événements sociaux, pour la plupart navrants de cruauté et d'indifférence. Dans les entrailles de la montagne les ouvriers, tombaient malades, « leur sang se changeait en eau » et, inaptes au travail, ils étaient renvoyés chez eux pour y mourir. Leur maladie fut d'abord pudiquement nommée « anémie du St Gothard ». L'alerte fut donnée par quelques journaux italiens et l'opinion publique réagit violemment. Cette réalité tragique a été à l'origine de nombreux travaux scientifiques: que se passait-il dans les entailles de la Terre, comment soigner ces pauvres ouvriers? Les faits se déroulaient à l'époque pasteurienne qui préconisait l'identification avec certitude de la cause spécifique des

affections. Les parasitologues italiens soupçonnèrent rapidement une infestation par le parasite (tropical) *Ancylostoma duodenale* mis en évidence lors des autopsies des ouvriers décédés (Perroncito, 1880). Mais ce diagnostic fut d'abord réfuté : il s'agissait de « cachexie des montagnes ». Mais la description des conditions d'humidité et de température dans le tunnel vont confirmer l'origine parasitaire de la maladie par contamination fécale.

Une nouvelle controverse a concerné ensuite le traitement de cette affection parasitologique, jusqu'au moment où un chercheur italien préconisa avec succès le thymol. Cela constituait selon A.C. Chandler (1961) une découverte fondamentale et le point de départ de la chimiothérapie anti-infectieuse.

De nombreuses connaissances furent ainsi acquises pendant l'épidémie du Gothard et sont encore valables à l'heure actuelle surtout au niveau de l'hygiène du territoire où la maladie sévit endémique (Pawlowski et al, 1993; Hunter et al. 1994). Elles ont permis d'identifier la maladie, endémique dans d'autres régions minières, et donc d'améliorer les conditions de travail de nombreux ouvriers en Allemagne (Ruhr, cf Langenfeld, 1981), en Angleterre (Manchester), en France (St Etienne, Valenciennes) et bien sûr en Suisse lors du percement d'autres tunnels (le Simplon par exemple). Comme le dit Perroncito (1910) lui-même dans un ouvrage de synthèse, l'expérience du Gothard au niveau de la microbiologie environnementale et de la parasitologie clinique, en assainissant le milieu et en réalisant des expériences thérapeutiques sur les malades a permis de résoudre un problème majeur de la médecine du travail de l'époque (Fig. 2).



Fig. 2 Monographie de Perroncito parue en 1910, avec le titre évocateur "la maladie des mineurs, du St. Gothard (1880) au Simplon (1903) une question résolue". Voir aussi G. Volante (1904 et 1906).

Les études réalisées à cette époque étaient pionnières et constituent une contribution importante à la naissance de la médecine tropicale moderne : selon l'OMS, l'ankylostomiase frappe actuellement, 900 Mio de personnes dans le Monde.

La région du Haut Tessin est de nouveau au centre de débats scientifiques et politiques, puisqu'une nouvelle transversale alpine, l'Alptransit (un tunnel ferroviaire de 57 km), y est en construction. Cette entreprise a nécessité elle aussi nombre d'études hydrogéologiques, géologiques et physiques, auxquelles se sont ajoutées les analyses hydrobiologiques.

C'est autour de ce nouveau défi technologique et scientifique que s'est réunie en 1998 à Airolo l'Académie Suisse des Sciences naturelles, sur le thème: «La recherche alpine et les transversales». Cela est un témoignage de reconnaissance de l'importance de la région dans le progrès des connaissances. Historiquement, la région du St Gothard a été une région de passage, une région de frontière, une région de rencontre, et par conséquent une région d'ouverture, d'échanges et de progrès scientifique (181 publications concernant la région, cf R. Peduzzi, 2000).

Grâce à la création du Centre Biologie Alpine à Piora, animé à l'origine par les Universités de Genève et de Zürich et actuellement aussi par l'USI (Université de la Suisse italienne), un site permanent d'observation et de recherche accueille régulièrement des scientifiques de tous horizons et de toute discipline.

L'accueil des stages d'étudiants (y compris des Ecoles d'été Franco-Suisse, cf. Peduzzi et Boucher-Rodoni, 2002) et la mise en oeuvre de recherches de pointe de l'étage alpin utilisant les approches les plus modernes de la biologie font que la Région de Piora s'insère à part entière, aujourd'hui encore, dans la communauté scientifique nationale et internationale.

Au cours de cette Ecole d'Eté, différents aspects de l'adaptation des organismes aux conditions extrêmes ont été envisagés. Ils ont montré que les solutions sont parfois communes dans les milieux alpins et marins. Ainsi, certains organismes marins possèdent des « protéines antigél » qui rappellent la présence de glycérol dans les plantes alpines pour résister au gel.

L'interface eau-sédiment présente les plus forts gradients physicochimiques de la planète et les organismes colonisant ces milieux (thiobios), adaptés à la vie en anoxie; ont développé des mécanismes de détoxification, souvent grâce à des bactéries associées. Dans de nombreux autres cas, la solution de l'association symbiotique entre organismes permet l'adaptation à des conditions particulièrement drastiques en milieu marin (sources hydrothermales) comme en milieu alpin terrestre et lacustre.

Ainsi, en conclusion, il apparaît que l'étude de la vie dans les conditions hostiles est source de solutions innovantes et qu'elle a beaucoup à nous apprendre en tant que réservoir de solutions biologiques originales pour les organismes.

## Références

- Bachmann, H. (1924).** Der Ritomsee. Schweiz. Zeitschr. Hydrol. II, Heft 1/2:7-28.
- Benguigui, I. (1994).** La vie et l'oeuvre scientifique de Jean-Daniel Colladon. Archs Sci. Genève, 47 (1), 61-72.
- Bertola, C. (1998).** François-Alphonse Forel (1841-1912) Fondateur de la limnologie suisse. Archs Sci. Genève, 51, 131-146.
- Borner, L. (1920).** Die Crustaceenfauna des Ritomsees und seines Deltas. Festschrift Zschokke, Basel.
- Borner, L. (1928).** Die Bodenfauna des Lago Ritom und seines Deltagebietes vor der Absenkung (1916) II. Schweiz. Zeitschr. Hydrol. IV, Heft 1/2: 121-162.
- Bourcart, F. (1906).** Les lacs alpins suisses, étude chimique et physique. Thèse présentée à l'Université de Genève. Georg & Co. Editeurs, Genève.
- Buscaglia, M. (2000).** Jean-Daniel Colladon et les technologies de percement. La ricerca alpina e le trasversali. Actes du Congrès de l'Académie Suisse des sciences naturelles (ASSN), Publications de l'ASSN no. 8, 133-137.
- Chandler, A.C. (1961).** Introduction to parasitology: 10ème édition Wiley & Sons; New York, pp. 822.
- Colladon, J.D. (1880).** Tunnel du Saint Gothard: observations sur la rencontre de deux galeries d'avancement et sur les causes de la rapidité d'exécution des travaux. Archs Sci. Genève, 3 (27), 381-401.
- Collet, L.W., Mellet, R., Ghezzi, C. (1918).** Le lac Ritom. Département suisse de l'intérieur, Communication du Service des eaux No. 13: 101 pp. (Dr. C. Mutzner), Bern.
- De Saussure, H.B. (1779/1796).** Voyages dans les Alpes, 1775 & 1783, Excursions et récits sur la région du Gothard (réimpression Ed. Slatkine Genève, 1978).
- Dueggeli, M. (1919).** Die Schwefelbakterien. Neujahrsblatt 121 der Naturforschenden Gesellschaft Zürich.
- Dussart, B. (1966).** Limnologie, l'étude des eaux continentales, Ed. Gauthier-Villars, Paris.
- Forel, F.A. (1892, 1896, 1904).** Le Léman, monographie limnologique. Librairie F. Rouge, Lausanne. 1-3.
- Fuhrmann, O. (1897).** Recherches sur la faune des lacs alpins du Tessin. Rev. Suisse de Zool., Tome IV, Fasc. 3: 489-533.
- Garwood, E.J. (1906).** The tarns of the Canton Ticino. Quart. Journ. Geol. Soc., Vol. LXII: 165-193.
- Hunter, J.M., Rey, L., Chu, K.Y., Adekolu-John, E.O., Mott, K.E. (1994).** Parasitoses et mise en valeur des ressources hydriques. Un impératif: la négociation intersectorielle. OMS, Genève.
- Lagenfeld, H. (1981).** Die Ankylostomiasis im Ruhrgebiet. Marburger Schriften zur Medizingeschichte 2, Verlag Peter Lang, Frankfurt am Main-Bern.
- Motta, E. (1882).** Versuch einer Gotthardbahn-Literatur (1844-1882) H. Georg's Verlag, Bale.
- Pawlowski, Z.S., Schad, G.A., Stott, G.J. (1993).** Infestation et anémie ankylostomiennes: méthodologie de la lutte. OMS, Genève.
- Peduzzi, R. (2000).** La ricerca alpina e le trasversali. Actes du Congrès de l'Académie Suisse des sciences naturelles (ASSN), Publications de l'ASSN no. 8, pp. 160.

**Peduzzi, R., Boucher-Rodoni, R. (2002).** Symbioses des organismes aquatiques et terrestres. Ecole d'Eté franco-suisse . ISSN N°1424-4993-Bibliothèque Nationale de Berne, Documenta du Centre de Biologie Alpine, pp. 78.

**Perroncito, E. (1880).** Observations helminthologiques et recherches expérimentales sur la maladie des ouvriers du Saint Gothard. Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Paris: 1373-1375.

**Perroncito, E. (1910).** La malattia dei minatori, dal San Gottardo al Sempione: una questione risolta. Edizione Carlo Pasta, Torino, pp. 335.

**Pini, E. (1783).** Memoria mineralogica sulla Montagna e sui contorni del San Gottardo, Milano.

**Tonolli, V. (1969).** Introduzione allo studio della limnologia (ecologia e biologia delle acque dolci). Ed. dell'Istituto italiano di idrobiologia Verbania Pallanza.

**Volante, G. (1904).** L'igiene del minatore. Domodossola, Tip. Ossolana.

**Volante, G. (1906).** Atti del 1. Congresso Internazionale per le malattie del lavoro. Milano.

### III. Les adaptations aux conditions extrêmes

#### A. Lake Cadagno, a model for microbial ecology

##### *Tonolla Mauro & Peduzzi Raffaele*

Lake Cadagno is a model to study adaptations in an extreme environment. It is located in an alpine zone, where winter conditions of ice and snow last 8-10 months a year. It is also one of the last existing meromictic crenogenic system (surface and bottom waters never mix). Moreover, the bottom of the lake is characterised by saline, sulphurous springs.

After twenty years of continuous examinations, the Lake Cadagno still harbours many secrets concerning his microbial life. Despite his meromictic state this interesting lake does not represent a static entity, on the contrary as evidenced by the latest works it is a complex ecosystem responding to the influences of his catchment area and to climatic changes. The aim of the present review is to give a general overview with the support of the newest ecological, phylogenetic and cultural findings.

#### 1. Origin of Lake Cadagno

Lake Cadagno has an estimated age of 8'000 to 11'000 years and is the result of glacial erosion during the last glacial period and the formation of a moraine acting as a small dam (Boucherle & Züllig, 1988; Del Don *et al.*, 2001; Krige, 1918; Stapfer, 1991). The lake is located in the southern Swiss Alps at 1921 m above sea level, in Val Piora (latitude: 46°33'N; longitude: 08°43'E). It is a very unique, small alpine lake (length: 830m, width: 420m, surface area: 0.26 km<sup>2</sup>, maximal depth: 21 m) (Del Don *et al.*, 2001), situated into Pre-Triassic gneiss and mica-shists of central alpine crystalline rocks just south of the Gotthard pass in the Canton Ticino. Its catchment area amounts for 2.71 km<sup>2</sup> (see figure 1).

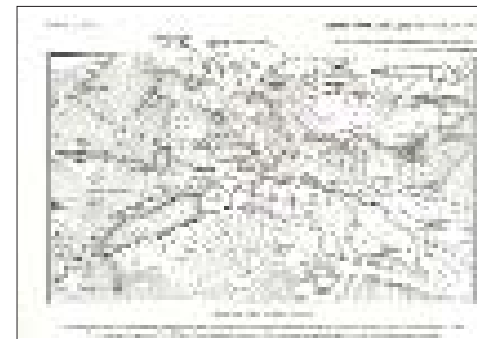


Figure 1  
Lake Cadagno and Piora region  
(from Garwood, 1906)

The southern lakeshore follows the contact of late Triassic and early Jurassic rocks folded into the so-called Piara-syncline characterized by the presence of tectonized dolomitic limestones (magnesian limestone) and gypsum deposits with a karstic hydrology. This vein separates the crystalline rocks of the Gotthard massif to the North and the metamorphic Pennine Lucomagno Nappe to the South over a distance of about 10 kilometers along the whole Piara valley (Garwood, 1906).

The lake has a stable crenogenic meromixis (créno = spring, from the Greek Krini) caused by water penetrating through the karstic dolomite and reappearing as underwater springs with a rather high ionic strength (9-10 mM) in the southern part of the lake (see figure 2). This saltwater forms a downstream flow feeding the anoxic monimolimnion. In fact as it has been shown by dye tracing experiments (Otz *et al.*, 2003) this groundwater originates from a relative small underground catchment area which spans for about 2 kilometers to the southeast up to the so called Calderoni Sinkhole. A sinkhole which causes, uphill, a flow of the underground water toward the Lucomagno, i.e. the opposite direction of the surface water flow.

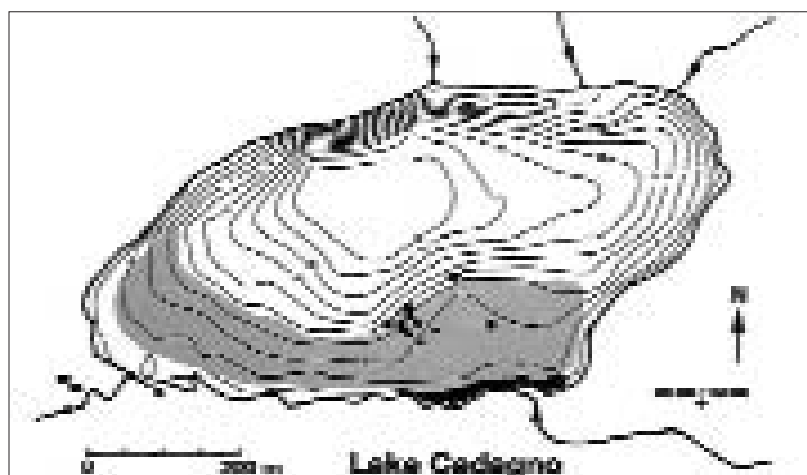


Figure 2: Bathymetric map of Lake Cadagno with stoneworts area (grey) and underwater springs (dark) (from Lehmann, 1999, modified)

The mixolimnion is fed by surface runoff from a small drainage area of about 2 square kilometers, northern to the lake, and which encompasses the crystalline rocks of the Gotthard massif. The major tributary is a small stream which drains water from the Lake Stabbio, a small lake some 400 meters above Lake Cadagno. The crystalline rocks of the watershed are rather resistant to chemical weathering, therefore the water of the mixolimnion has a relatively low ionic strength and is oligo to mesotrophic. The density difference between the two watermasses in lake Cadagno causes the development of a very stable stratification with a chemocline (or lytocline) at

a depth of approximately 8-14 m characterized by a rapid change of the concentrations of chemical components (Del Don *et al.*, 2001; Hanselmann & Hutter, 1998; Peduzzi *et al.*, 1998).

The mixolimnion has a volume of about  $2.5 \times 10^6 \text{ m}^3$  whereas the monimolimnion is more than ten times smaller i.e. ca.  $0.2 \times 10^6 \text{ m}^3$ . The area represented by the 12 m deep isobath corresponds to 92,100  $\text{m}^2$  (i.e. 34 % of the surface at 0 m depth), this is the place where a dense microbial community, mainly composed of anoxygenic phototrophic bacteria, develops. They take advantage from the organic material in the sinking algal biomass and from the light penetrating through the mixolimnion, as well as from many chemical compounds such as sulfide, magnesium, carbonate, sulfate, ammonium, phosphate, dissolved iron, diffusing upward from the anoxic monimolimnion (Del Don *et al.*, 2001; Tonolla *et al.*, 1988; Tonolla *et al.*, 1998a).

Table 1: Means ( $\pm$ standard deviations) of limnological parameters measured during the third week of July for a period of ten years (1986-1996) in the three compartments of the Lake Cadagno.

	Mixolimnion (0 m)	Chemocline (11-14 m)	Monimolimnion (17 m)
Secchi depth (m)	6.8 ( $\pm$ 0.6)		-
Temperature $^{\circ}\text{C}$	16.3 ( $\pm$ 1.3)		4.7 ( $\pm$ 0.8)
Conductivity ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	120 ( $\pm$ 15.0)		321 ( $\pm$ 59.0)
pH	8.8 ( $\pm$ 0.2)		7.2 ( $\pm$ 0.1)
Photosynthetic Active Radiation ( $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	1500 ( $\pm$ 150.0)	4 ( $\pm$ 0.4)	
Depth (m) at which the oxygen concentration drops to 0 $\text{mg l}^{-1}$		11.0 ( $\pm$ 1.3)	

## 2. Scientific studies and hydroelectric exploitation: an historical overview

Lake Cadagno has attracted scientists since the end of the 19th century. In fact, since the birth of limnology, the lakes of the Piara region have held considerable scientific interest (Bourcart, 1906; Garwood, 1906). Stratification phenomena, as well as sulfurous deep waters and mass developments of sulfur purple bacteria, have been observed. A monograph on Lake Ritom (Collet & Mellet, 1918) was published after a number of studies were carried out while the hydroelectric dam was being built (1915-1920) during the First World War. Already then, the importance of the sulfur cycle and the bacteria involved had been noted (Düggeli, 1924), and specific studies on fish species (Surbeck, 1917) as well as initial research on phytoplankton and

sulfur bacteria (Bachmann, 1924; Bachmann, 1928; Borner, 1928a; Borner, 1928b; Burckhardt, 1910; Düggele, 1924) were carried out on Lakes Ritom and Cadagno. These early publications established important evidence for the loss of meromixis in Lake Ritom following the construction of the dam, as indicated in the work of Düggele (Düggele, 1924): "Bevor der Mensch in den Wasserhaushalt stark eingriff, also bis zum Jahre 1917, bestand der Ritomsee aus zwei durchaus verschiedenen Wassermassen, die übereinander geschichtet, nie durch Vollzirkulation miteinander vermischt wurden. Die Grenzschicht lag 12-15 m unter der Oberfläche.[...] Die untern Wassermassen zeichneten sich durch einen bedeutenden, mit der Tiefe zunehmenden Gehalt an Schwefelwasserstoff aus." („Before man began intensively tapping into water resources around 1917, Lake Ritom was composed of two different superimposed water masses, which never completely mixed. The border strata laid 12-15 m below the surface. [...] The lower water mass was characterized by a significant hydrogen sulfide content which increased with depth“) Another alpine lake which suffered the same fate in 1943 was Lac de La Girotte in Haute Savoie, France (Delebeque, 1898). At the present time Lake Cadagno features a unique crenogenic meromixis phenomenon in the whole Alpine range. However, in 1948 a small dam was built raising the elevation level from 1918 to 1921 m.a.s.l. (Knoll-Heitz, 1991), up to now it is used for extra production of electricity by reducing its level by 3 m during the winter. This lowering of the water level is equivalent to a loss of 720,000 m<sup>3</sup> water, i.e. 30 % of the lake's total volume (2.42 million m<sup>3</sup>) and 50% of the water volume, with an concentration greater than 4 mg l<sup>-1</sup> (minimum survival limit for Salmonidae). Aerobic organisms in the mixolimnion are subjected to a significant reduction in vital space. In addition to that, 45,000 m<sup>2</sup> of littoral dry up (see figure 3) causing, on the one hand, the death of numerous sediment dwellers which would have been a potential source of nourishment for fish species and, on the other, the loss of spawning areas for their reproduction (Tonolla *et al.*, 1988).

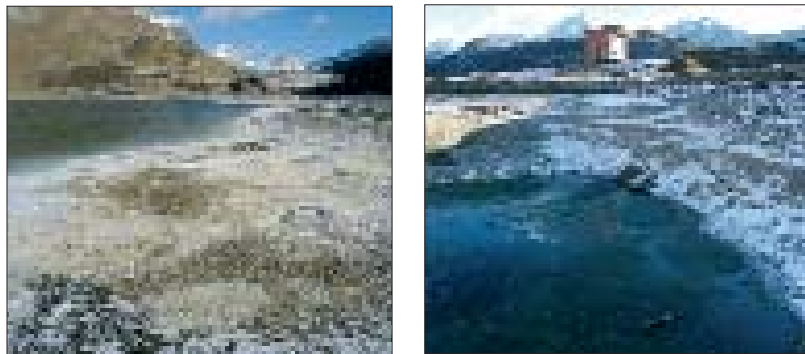


Figure 3: Pictures taken the 20<sup>th</sup> of November 2005 evidencing the dried shores during the winter season due to the lowering of the lake for hydroelectric exploitation. A: Southern lake's shore. B: Outlet at 3 m depth (Photo R. Peduzzi)

Meromictic conditions allow for good fish productivity which was estimated between 25 and 30 kg ha<sup>-1</sup> in Lake Cadagno (Marrer, 1975; Tonolla *et al.*, 1988), this represents a high productivity for lakes at altitudes close to 2000 meters. The lakes of the Piora region, Lakes Ritom and Cadagno in particular, have always been exploited for fishing, and is documented as far back as the 15<sup>th</sup> century (Surbeck, 1917). For the inhabitants of this mountain region, fish was an important source of proteins (Peduzzi, 2000).

Studies on Lake Cadagno were intensified during the 20th century, even more so in the 1980s (for a complete bibliography, see (Peduzzi *et al.*, 1998; Peduzzi, 2000) for data after 2000, refer to the present review). Furthermore, the opening of the Alpine Biology Center (ABC) in Piora with the cooperation of the Universities of Geneva, Zurich and Lugano (Università della Svizzera italiana-USI), as well as participating cantons, the municipality and the patriciate of Quinto, has led to a substantial increase in scientific studies in the region of Piora, and particularly on Lake Cadagno. The presence of such a series of scientific data is a valuable source of information for researchers, as it provides an important historical perspective. What is more, major studies conducted recently have created a solid basis for future research.

Meromixis may also be biogenic as it is the final result of eutrophication. A well-documented case is Lake Lugano (Barbieri & Mosello, 1992; Peduzzi, 1981) and, from this perspective, Lake Cadagno represents an interesting model for the study of stratified aquatic systems in general.

### 3. The Lake Cadagno ecosystem

The chemistry of a lake is directly influenced by the geological composition of its catchment area and of the area in direct contact with the waterbody. As mentioned earlier, the Piora region is characterized by the presence of both crystalline and sedimentary rocks (dolomite with gypsum) which determines the chemical composition of this water.

The dolomite vein is in direct contact with the southern part of the Cadagno basin. The water which percolates through these very erodible rocks becomes enriched in calcium, magnesium, carbonate and sulfate, and enters the waterbody through sublacustrine springs.

The analysis of seven underwater springs located in the southern part of the lake at a depth of 8 to 12.5 m provided values within the following averages: conductivity 1359 (± 145) µScm<sup>-1</sup>; calcium 171.1 (± 22.5) mg l<sup>-1</sup>; magnesium 74.7 (± 10.1) mg l<sup>-1</sup>; sulfate 622.9 (± 81.5) mg l<sup>-1</sup> and carbonate 120.7 (± 35.6) mg l<sup>-1</sup> (Del Don *et al.*, 2001).

The inflow of this saltwater causes the monimolimnion formation in Lake Cadagno and the establishment of the meromixis (see figure 4).

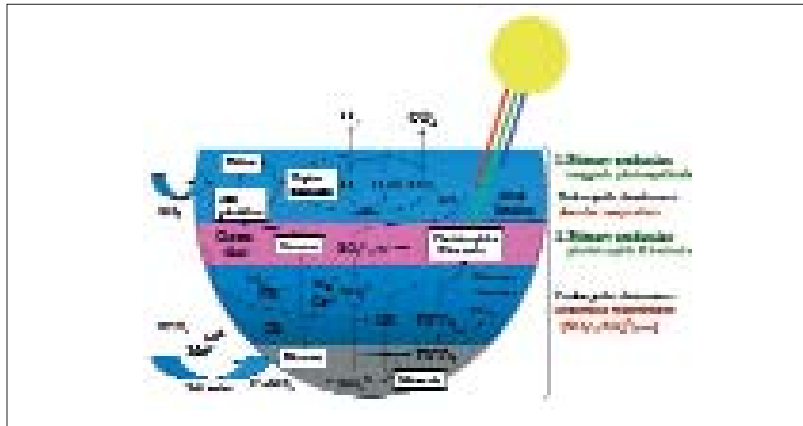


Figure 4: The ecosystem Lake Cadagno.

The mixolimnion is constituted by oligoelectrolytic water from the northern part of the catchment area, formed by crystalline rocks (Gotthard massif). The chemocline is permanent and stabilized by the difference in density between the two water strata (Del Don *et al.*, 2001; Lehmann & Bachofen, 1999; Tonolla *et al.*, 1998b).

In summer, the thermocline is at a depth of 7-8 m. At the upper level, mixing due to convective turbulences can reach a depth of 5 m. In winter, a thermal inversion takes place between 1 and 2 m below the ice crust. Further down, geothermic heat from the underwater springs combined with the heat from microbial mineralization activity in the sedimenting biomass may account for the slightly higher temperatures recorded near the sediment (4.7°C) in wintertime (Del Don *et al.*, 2001). In summer, the density and stability profiles (the latter stated in Brunt-Väisälä (N) frequency (Del Don *et al.*, 2001), show two zones with potentially more stable water masses at depths of 6-7 m and 12-13 m. The upper pycnocline is due to changes in temperature, while the lower pycnocline is dependent on the variation in salt content, which is high in the monimolimnion. In fall, the mixolimnion circulation moves the chemocline downward. This shift may be very pronounced and may extend to deeper strata, in fact on 18th of October 2000 the waterbody was overturned down to a depth of 17.5 m, as a consequence of strong autumn winds (see chapter 4.1). This extreme mixing event had with a high probability consequences on the distribution of nutrients in the water column and the chemocline leading later to the massive development of *Chlorobium clathratiforme* which became dominant in year 2002 (Tonolla *et al.*, 2005b).

Concerning the stability of the watermasses it has to be noted that the massive development of large celled flagellated phototrophic purple bacteria in the chemocline may also influence the profiles of temperatures and salinity by their active movements, producing constant values over a depth interval of about 0.5 m. The water mixing caused by the organisms at this level destabilizes the density gradient and

influences the physico-chemical stratification (Wüest, 1994).

The meromixis of Lake Cadagno and the presence of phototrophic bacteria must have stayed for several centuries. This was inferred from the analyses of organic components in the sediments (Loshier, 1989; Putschew *et al.*, 1995), trace pigments, for example okenone and isorenieratiene which are typical of purple and green phototrophic bacteria, respectively (Züllig, 1985), as well as from the analyses of Cladocera (Crustacea) remains (Boucherle & Züllig, 1988).

The **mixolimnion** extends to a depth of 10-12 m and the epilimnetic concentrations of nutrients above 10 m depth are low: the concentration of phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) is close to the detection limit ( $< 1 \mu\text{g P l}^{-1}$ ), nitrate is below  $50 \mu\text{g N l}^{-1}$  and dissolved inorganic carbon (DIC) is approximately  $10 \text{ mg l}^{-1}$  (Del Don, 1986; Friedl, 1987; Tonolla *et al.*, 1998b; Tonolla *et al.*, 1999).

Phytoplanktonic communities within the first 10 meters of depth are characterized at the beginning of summer by a uniform vertical distribution of pennales and centric diatoms as well as cryptophyte and dinophyte green algae (mostly *Scenedesmus* and *Dictyosphaerium*). Pennales and centric diatoms (*Fragilaria*, *Stephanodiscus*, *Cyclotella* sp.) then become dominant. In autumn, green algae (*Echinocoleum*, *Sphaerocystis*, *Oocystis*) dominate (Camacho *et al.*, 2000; Peduzzi *et al.*, 1982-2003; Schanz & Stalder, 1998).

Chlorophyll *a* concentrations vary between 4 and 65  $\text{mg m}^{-2}$ , depending on the period of sampling, while the primary production of phytoplankton varies between 23 and 79  $\text{mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$  in the water column, from 0 to 9.5 m depth (Schanz & Friedl, 1993). The comparison of 1987 and 1997 data didn't show any statistically significant variation (Bossard *et al.*, 2001; Pasini & Schanz, 1998; Pasini, 1999).

Dense developments of *Fragilaria capucina* and *Cyclotella comensis* are sometimes noted in the oxic-anoxic transition zone of the upper chemocline. A few centimeters deeper, the massive presence of cryptomonads *Cryptomonas erosa* and *Cryptomonas phaseolus* (Camacho *et al.*, 2001), give the water an intense green shade (Tonolla, 1987). At the same depth, in the absence of dissolved oxygen, an important zooplankton community thrives all year round (Camacho *et al.*, 2001; Peduzzi *et al.*, 1982-2003; Tonolla *et al.*, 1988). The dominant species are cladocera, *Daphnia longispina*, *Bosmina longirostris*, which often represent up to 40% of the zooplankton (Camacho *et al.*, 2001). Other zooplankton species encountered in significant quantities are the calanoid Copepoda *Acanthodiaptomus denticornis* and the cyclopoid *Cyclops abyssorum*. Among rotifera, *Conchilus* sp. and *Asplanchna priodonta* were found (Camacho *et al.*, 2001).

These organisms take advantage of the bacterial development in the chemocline for their growth, and they are a link between bacterial production and the upper levels of the food chain (e.g. fish). *In situ* hybridization has evidenced the presence of purple phototrophic bacteria in the intestine of these predators (see figure 5). This was further confirmed by the analysis of stable carbon isotopes in bacteria and zooplankton by which the contribution of the bacterial layer in providing carbon to the zooplankton through predation was estimated at 50% (Camacho *et al.*, 2001).

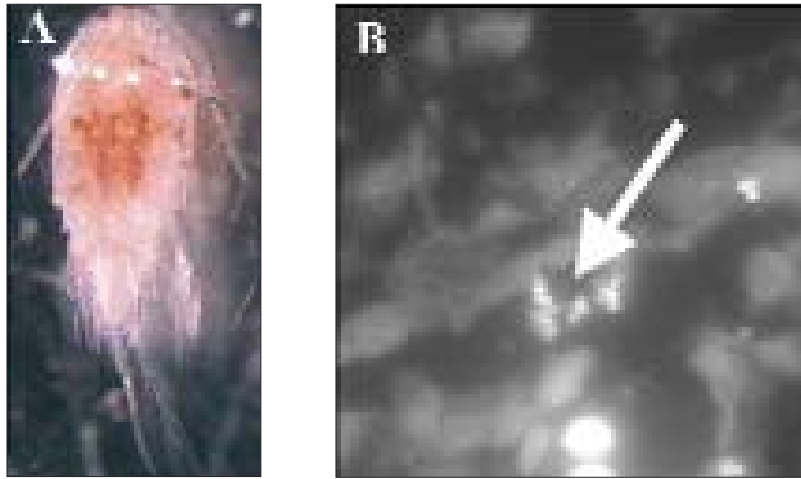


Figure 5: A) Image of *Cyclops abissorum* from the chemocline of Lake Cadagno (bar: 200  $\mu\text{m}$ ). B) FISH with probe 453F highlighting the presence of members of *Chromatiaceae* (population F) (arrow) within the intestinal lumen of *Cyclops abissorum*, from the chemocline of Lake Cadagno (bar: 20  $\mu\text{m}$ ).

It is thus in the **chemocline** that the major development of bacterioplankton is encountered. At this level, just below the cryptomonas layer, hydrogen sulfide and light gradients promote the growth of a great number of bacteria, of which 30% may be represented by the *Chromatiaceae* (Tonolla *et al.*, 1988). Their purple pigmentation is due to the presence of carotenoids, more particularly of okenone, which gives the water its characteristic color (see figure 6).



Figure 6: A) Watersamples from the mixolimnion (8.5 m), from the chemocline (12.5 m), and from the monimolimnion (15 m) of Lake Cadagno. B) Microscopy of the purple sulfur bacteria in a sample from 12.5 m depth.

This chromatic adaptation allows phototrophic bacteria to make optimal use of the particular light conditions in the chemocline. The form and structure of the bacterial layer is dynamic due to both bacterial movements and physical displacement of water masses, diurnal depth variations of the bacterial plume have been detected through turbidity measurements, pigment analyses and bacterial counts (Egli *et al.*, 1998; Tonolla, 1987), according to other studies in meromictic lakes (Serra *et al.*, 2003; Sorokin, 1970). Light conditions seems to be crucial for the vertical positioning of the bacterial plume in the water column, in dark limnocorrals of 2 m in diameter and 16 m length the *Chromatiaceae* positioned 1 m above the bacterial layer in the open lake (Tonolla, 1987). This finding supports the results of Overmann and Pfennig (Overmann & Pfennig, 1992) showing that the formation of gas vacuoles in *Amoebobacter purpureus* strain ML1 was promoted by dim light.

Light intensity and light quality at the surface on a sunny day are identical in winter and summer, while transmission parameters in the water column vary greatly as a consequence of the ice and snow layer which may reach several meters in winter. Only about 0.6% of light penetrates the ice and snow strata and the intensity which reaches the chemocline is 10 to 100 times weaker in winter. The transmission of various wavelengths during both seasons is characterized by a good penetration of green light (around 560 nm), a strong absorption of the red and infrared part (water molecules, chlorophyll a), as well as a marked dispersion of wavelengths under 490 nm, due to suspended particles (Del Don *et al.*, 2001; Fischer *et al.*, 1996; Schanz *et al.*, 1998; Tonolla, 1987).

Attenuation coefficients ( $K_d$ ) of light in the mixolimnion vary between 0.2 and 0.4  $\text{m}^{-1}$ , these are comparable to levels measured in other Swiss lakes (Schanz, 1985). As for the chemocline, coefficients up to 6  $\text{m}^{-1}$  may be measured (Tonolla *et al.*, 2002). This high absorption is due to the presence of the dominant pigment in the phototrophic bacteria level, the okenone, with the maximum absorption *in vivo* at 520 nm (Parkin & Brock, 1981), as represented in figure 7, which shows the absorption spectrum of pure cultures of *Chromatiaceae* from Lake Cadagno.

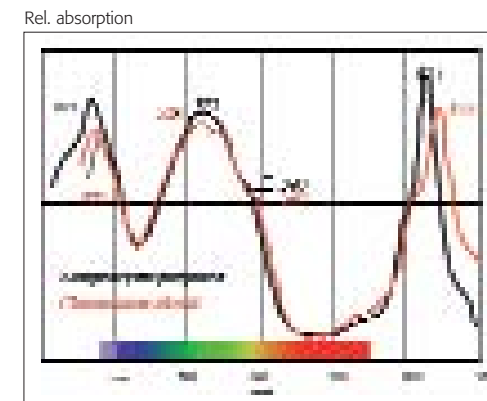


Figure 7: *In vivo* absorption spectra of members of *Chromatiaceae* present in Lake Cadagno.



Despite the fact that the chemocline in Lake Cadagno represents only 10% of this lake's total volume, and that light intensity is reduced to 0.3 to 2% of the surface intensity, up to 40% of the total photoassimilation of inorganic carbon in the lake takes place within the layer of phototrophic organisms (Camacho *et al.*, 2001). At the chemocline level, half of this photoassimilation is due to phototrophic bacteria and the other half to algae, mostly cryptophytes. Camacho and his team succeeded in demonstrating that the values of total assimilation of inorganic carbon in the absence of light (dark fixation) reach 50% of the lake's total inorganic carbon assimilation, which confirms the results obtained previously on primary production (Friedl, 1987). These data agree with those from the meromictic lakes Cisò (Pedrós-Alió & Guerriero, 1993), Big Soda (Cloern *et al.*, 1983) and Kinneret (Hadas *et al.*, 2000), indicating that chemoautotrophic activities may indeed have a huge importance comparable to photoautotrophic activities.

Bacterial groups which may be involved in chemoautotrophic activities in the chemocline are thiobacilli (aerobic chemoautotrophy), as well as *Chromatiaceae*, including *Lamprocystis purpurea* (formerly *Amoebobacter purpureus* and *Pfennigia purpurea*) (Eichler & Pfennig, 1988; Imhoff, 2001; Tindall, 1999; van Gemerden & Mas, 1995). Inorganic carbon assimilation activities have been measured also in the monimolimnion. Potentially involved organisms are acetogenic, methanogenic, as well as some sulfate-reducing bacteria (Shively & Barton, 1991).

The **monimolimnion** is anoxic and rich in reduced compounds due to the action of anaerobic bacteria. Moreover, it is a steady source of nourishment indispensable to the development of the microbial population in the chemocline (see figure 8). High concentrations of sulfur compounds ( $\text{HS}^-$  up to  $30 \text{ mg l}^{-1}$ ;  $\text{SO}_4^{2-}$  up to  $200 \text{ mg l}^{-1}$ ), nitrogen compounds ( $\text{NH}_4^+$  up to  $5 \text{ mg l}^{-1}$ ), phosphorus ( $\text{PO}_4^{3-}$  up to  $0.4 \text{ mg l}^{-1}$ ) (Del Don, 1986; Tonolla, 1987; Tonolla *et al.*, 1998b), and dissolved organic carbon (up to  $6 \text{ mg C l}^{-1}$ ) (Bertoni *et al.*, 1998), are the basis for the massive development of these bacteria, which reach maximum concentrations of  $10^7$  cells per milliliter in the upper range of sulfur diffusion. Moreover, total bacterial count is very high in the deep strata of the monimolimnion ( $11 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ ) (Bensadoun, 1995; Bensadoun *et al.*, 1998; Tonolla *et al.*, 1998a).

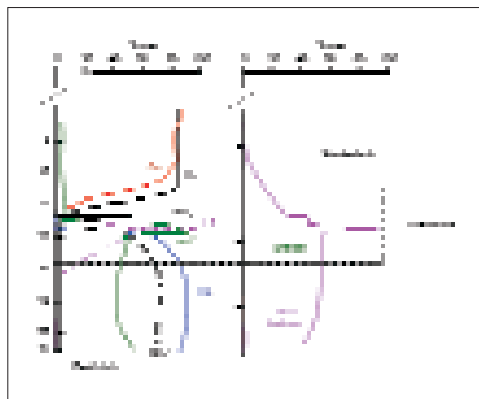


Figure 8: Typical vertical profiles of Lake Cadagno in summer (July). 100% of concentrations corresponds to:  $\text{O}_2 = 12 \text{ mg l}^{-1}$ ;  $\text{NO}_3^- = 2 \text{ mg l}^{-1}$ ;  $\text{Fe}^{++} = 0.25 \text{ mg l}^{-1}$ ;  $\text{Mn}^{++} = 0.25 \text{ mg l}^{-1}$ ;  $\text{NH}_4^+ = 1.5 \text{ mg l}^{-1}$  et  $\text{HS}^- = 25 \text{ mg l}^{-1}$ ;  $\text{Eh} = 0\%$ ;  $-350 \text{ mV}$ ;  $\text{Conductivity} = 350 \mu\text{S cm}^{-1}$ ;  $\text{Turbidity} = 110 \text{ FTU}$  and total bacteria (AO stain) =  $7 \times 10^6 \text{ cells ml}^{-1}$  (Tonolla *et al.*, 1996).

The **sediments** of Lake Cadagno are characterized by a belt of macrophytes (*Chara globularis* var. *globularis*, *Potamogeton* sp.) which spans from 1 to about 7 m depth in the southern's lake side. Their lower limit of growth coincide with the presence of sulfidic sediments and the sublacustrine sulfurous springs (Lehmann & Bachofen, 1999). From this depths range down to the middle of the chemocline (about 12.5 m) the surface of the sediments are in contact with the diffusing oxygen and present the development of bacterial mats in patchy formations. The total area of these sediments is about  $474'000 \text{ m}^2$ , whereas the benthic contact surface from 12.5 to 21 m depth is only about  $1/4$  ( $114'800 \text{ m}^2$ ) which still represents 17.4% of the total sediment surface of lake Cadagno. These two type of sediments are very different: the littoral sediments of the southern part inclusive the zone with the macrophytes is a source of both sulfate and sulfide (Hanselmann & Hutter, 1998; Lehmann & Bachofen, 1999) for the whole lake due to the presence of the upcoming sulfurous water and the presence of extensive bacterial mats (see figure 9).

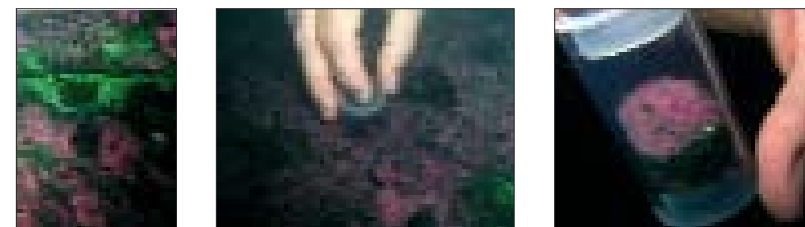


Figure 9: Microbial mats in the Lake Cadagno at depths comprised between 5 and 8 meters (left) and sampling of a purple part (middle and right). Photos made by Patrick Steinman August 2005.

In the microbial mats active phototrophic prokaryotes and an active community of sulfate reducing bacteria is present as well members as of the major phylogenetic groups as determined by the application of targeted *in situ* hybridizations using fluorescently labeled oligonucleotide probes (see table 2).

Table 2: Relative abundance (values: min=0 and max=3) of bacteria belonging to the major phylogenetic groups and number of different morphotypes in the five types of microbial mats from Lake Cadagno's sediment considered. (U: upper, M: middle, and L: lower part of the bacterial mat).

Probe	Green			Red		Rose		White		Dark green		Morph		
	U	M	L	U	L	U	L	U	L	U	L	U	M	L
Alf1a	2.5	3	2.5	2	3	2	1	3	1	3	3	2.5	2	3
Bet42a	3	2	2	2	3	0.5	0.5	3	1	3	0.5	3	2	9
Gam42a	0.5	1	1	0.5	1	1.5	1.5	2	1.5	0.5	1	1	1	12
SRB38S	0.75	2	1	0.5	3	2	0.75	2	1	0.5	2	0.75	1.5	17
SRB38Sdb	2	3	3	0.75	3	3	1.5	3	3	0.75	3	3	3	16
HGC69a	0	0	0	0.25	0.25	0	0	0	0	0.25	0	0	0.25	n.d.
GSB532	0.25	0.5	0.5	0.25	0.75	1.5	0.5	1.5	0.5	0.25	0.5	0.5	0.25	0.5
CF319a	0	0	0	0	0	0.5	0.5	0	0	0	0	0.25	0	0.25
Pla	0	1	0.75	0.25	0.5	0.5	0.25	1.5	0.5	0.25	0.5	0.5	1	3
Arch915	0.5	1	1.5	0.5	1.5	1.5	0.5	0.5	1	1	2	0.75	0.75	0.75

The lake sediment below the chemocline is permanently anoxic, at 21 m depth the upper sediment layers consists of phototrophic sulfur bacteria and algae (mainly diatoms) settled from the water column, the estimated sedimentation rate is about 0.5 cm y<sup>-1</sup> (Birch *et al.*, 1996). The upper 15 cm of the sediment consists of a high percentage of organic matter reaching up to 17 % (Loshner, 1989), sandy layers (turbidites) are intercalated with organic rich layers, the amount of inorganic carbon is about 0.4 % (mean value). A turbidite at about 25 cm depth into the anoxic sediment could be assigned to an avalanche occurred in 1951 which destroyed 25 stone houses along the north shore line (Birch *et al.*, 1996). In total Boucherle and Züllig (Boucherle & Züllig, 1988) enumerated 4 events (avalanches or landslides) recorded in the sediments and which corresponded to a decrease in cladocerans remains as a result of a large input of allochthonous material. Moreover they identified two eutrophication periods, the first as a result of an input of allochthonous material that reduced the lake basin (turbidite at 1 m depth in sediment) while the second one beginning at 52 cm depth was correlated with an increased human habitation and agriculture in lake's catchment. At the top of the sediment the shift of cladoceran fauna from a dominance of littoral species to a dominance of planktonic species, and the rise in bacterial pigments and more oligotrophic conditions coincided with the construction of the 5 m dam in 1948 (Boucherle & Züllig, 1988).

At 21 m depth the sulfate diffuses from the monimolimnion into the sediment with fluxes of about 20 μmol dm<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> and in the first 20 cm its concentration drops from 3 to 0.2 mM due to the activity of sulfate reducing bacteria which produce sulfide; it is detected as a peak of 2-3 mM at about 8 cm depth (Birch *et al.*, 1996; Bottinelli, 2003; Hanselmann & Hutter, 1998; Lehmann & Bachofen, 1999). From this depth the sulfide diffuses back to the monimolimnion as well as to the lower strata of the sediment where it precipitates after reaction with the upcoming ferrous iron released from clastic deposits at 50 cm depth (Birch *et al.*, 1996; Loshner, 1989; Züllig, 1985). As a whole at the maximum depth of 21 m the rate of sulfate consumption measured by (Hanselmann & Hutter, 1998) was three times higher than the apparent sulfide production rate and therefore they concluded that this sediment represent a sink of sulfur for the ecosystem of Lake Cadagno reaching up to 4%, values comparable of marine deposits (Loshner & Kelts, 1989). Interesting pictures showing convective flows of sulfide free porewater coming from the sediment and streaming upwards to the monimolimnion were taken using the sulfur prints imaging technique (Lehmann & Bachofen, 1999). Bacteria and archaea reach high densities of 10<sup>10</sup> cells per gram (dry weight) of sediment in the upper 5 to 10 cm (Bottinelli, 2006).

#### 4. Chronology of the in situ microbial analysis

At the early 90's the application of direct detection methods, such as nucleic acids staining on chemocline and monimolimnion water samples, evidenced the presence of several bacterial morphotypes and allowed an initial evaluation of bacterial diversity (see figure 10). Bacterial cells showed biovolumes between 0.1 and 70 μm<sup>3</sup>, yet the most numerous bacterial morphotypes are those corresponding to spherical and vacuolized phototrophic bacteria, *Lamprocystis*, as well as to *Chromatium okenii*

(with flagella), They were placed at the upper limit of the sulfide front, i.e. at depths between 12 and 13 m, where the light intensity ranges from 0.1 to 4 μE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Despite the reduced number of cells (up to 2 x 10<sup>4</sup> cells ml<sup>-1</sup>), *C. okenii* occupies a considerable volume in the transition zone. In fact, in summer, it represented approximately 0.1-0.2 % of the total bacterial count. Its biovolume ranged between 10 and 40% of the total germs located at the same level (Bensadoun, 1995; Bensadoun *et al.*, 1998; Tonolla *et al.*, 1998a).

In the transition zone, *Lamprocystis* cell counts represented 13 to 30 % of the total bacteria, 14 and 15% of the total bacterial counts (Bensadoun, 1995), while its biovolume ranged between 5 and 12 % of the total bacterial volume.

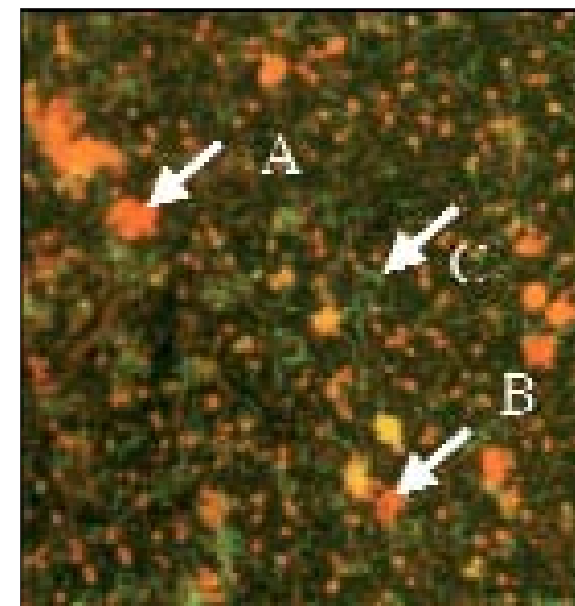


Figure 10: Acridine orange stain of total bacteria from the chemocline of Lake Cadagno. A: *Chromatium okenii* B: morphotype *Lamprocystis purpurea* C: morphotype R (bar: 10 μm)

In the monimolimnion, sedimenting *L. purpurea* cells reached 3-5 % of the total bacteria, and representing approximately 5 to 10 % of the total bacterial volume (Tonolla *et al.*, 1998a). *L. purpurea* showed a marked tendency to cluster in aggregates of 200 to 900 cells in the chemocline as well as in the monimolimnion (Tonolla *et al.*, 1999; Tonolla *et al.*, 2000a).

Besides morphotypes of phototrophic bacteria (*Lamprocystis* and *C. okenii*), two other morphotypes containing gas vacuoles were described in the anoxic water of Lake Cadagno. An ovoidal morphotype similar to Morphotype H1 was described in the lakes Blake Mere, Kettle Mere and Crose Mere (Clark & Walsby, 1978a; Clark & Walsby, 1978b). In August 1993, its peak development reached 6.8x10<sup>5</sup> cells per ml

in the middle of the chemocline.

The second, called Morphotype R, is peculiar and easily recognizable in the monimolimnion of Lake Cadagno as it emits a green fluorescence after Acridine Orange staining (Bensadoun *et al.*, 1998). The vertical distribution of this morphotype was unusual, compared to other bacterial morphotypes, as it did not produce a maximum in abundance in the chemocline, but its distribution followed the pattern of conductivity profiles and those of hydrogen sulfide (Bensadoun, 1995; Bensadoun *et al.*, 1998; Tonolla *et al.*, 1998a).

In the light microscope, Morphotype R showed a Gram-negative staining and had a gas vacuole in the centre of the cell. Most cells are rod-shaped, although some curved rods were also observed. Morphotype R cells measure 0.4-0.5  $\mu\text{m}$  in width and 2-3  $\mu\text{m}$  in length (Bensadoun, 1995). Moreover, electron microscopy studies of this morphotype (see figure 11) showed that it presented rounded ends and divided by elongating a longitudinal «bud».



Figure 11: Electron microscopy of a dividing cell of morphotype R, note the budding mode at the end of the cell. Bar: 0.2  $\mu\text{m}$  (Bensadoun, 1995).

The distribution of Morphotype R in the water column as well as its morphology were similar to that of Morphotype T5, described by Caldwell D.E. and Tiedje J.M. (Caldwell & Tiedje, 1975a; Caldwell & Tiedje, 1975b) in Lakes Wintergreen and Burke (Michigan, USA), and that of the morphotype analyzed by Oberhäuser-Nehls R. and coll. (Oberhäuser-Nehls *et al.*, 1994) in Lake Pluß (Germany). It probably also corresponds to Morphotype R1, reported by Clark A.E. and Walsby A.E. (Clark & Walsby, 1978a; Clark & Walsby, 1978b). However, the type of division of Morphotype R

seemed to be identical to that described for Morphotype T4 by Caldwell D.E. and Tiedje J.M. (Caldwell & Tiedje, 1975b), which was also observed by electron microscopy. This bacterium named *Desulfomonile tidjei* was isolated by DeWeerd K. and associates in 1990 (DeWeerd *et al.*, 1990) from sludge of a water treatment plant and was characterized by Shelton D.R. and Tiedje J.M. in 1984 (Shelton & Tiedje, 1984). It is a Gram-negative bacterium with the peculiarity, as observed for Morphotype R, of forming a collar and having the ability to use halogenated organic compounds (e.g. 3-chlorobenzoate) as final electron acceptors instead of  $\text{SO}_4^{2-}$  (halorespiration or reductive halogenation). Morphotype R amounted for 17% to 44% of total bacterial counts, especially at depths around 15-17 m. Over a season, the most frequently recorded values was around 30%. The calculations of biovolumes reached values between 10% and 17% of the total bacterial volume (Tonolla *et al.*, 1998a). Recent molecular analyses confirmed that the morphotype R belongs to the genus *Desulfomonile*, and the development of specific oligonucleotide probes allowed its detection in the monimolimnion and in the anoxic sediment (Tonolla *et al.*, 2005a). It was noted, especially in early summer, that high total bacterial counts were primarily due to the important development of *Lamprocystis* and Morphotype R in the monimolimnion, whereas the development of *C. okenii* was limited to the chemocline, particularly between the end of July and the beginning of August.

The study of morphotypes led to the analysis of populations in the ecosystem of Lake Cadagno, thanks to the presence of bacteria with distinct morphologies. However, between 50% and 70% of total bacteria are not distinguishable morphologically and thus escape identification. Moreover, the same cell morphology might contain bacteria which belong to different taxonomic groups. For these reasons, research has prompted us to use molecular detection methods based on phylogeny and detection of ribosomal RNAs. In fact, since 1994 the application of specific oligonucleotide probes made it possible to analyze the presence and the morphology of bacteria belonging to the main phylogenetic groups.

Between 70% and 90 % of total bacteria in the water column showed a signal after hybridization with the EUB338 probe, a probe specific for bacteria of the phylum *Bacteria*. Through the use of Alf1b, Bet42a, Gam42a and SRB385 probes, it was possible to determine the frequency of microorganisms belonging to the major subdivisions  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  and  $\delta$  proteobacteria of the same phylum, representing 23%, 17%, 45% and 15% of total bacteria in the chemocline respectively (Tonolla *et al.*, 1998a). These results confirmed the dominance of phototrophic bacteria (subdivision  $\gamma$ ) and sulfate-reducing bacteria (subdivision  $\delta$ ), but showed an unexpectedly high percentage for subdivision  $\alpha$ , which generally consists of bacteria abundant in sea water. Further analyses showed that *Desulfomonile sp.* Became labelled after hybridization with this probe. In fact, the target site of Alf1b (bp 19 to 35 following the E.coli numbering system (Brosius *et al.*, 1981) presents a perfect homology producing a positive signal. Morphotype H1 hybridized with probe Bet42a .

Positive cells for probes Alf1b, Bet42a, Gam42a and SRB385 were further analyzed and subdivided into 4 morphotype classes, on the basis of the criteria suggested by Ramsing and co-workers (Ramsing *et al.*, 1996). Subdivisions with the major number of different morphotypes were  $\beta$  and  $\delta$  (Tonolla *et al.*, 1998a).

The phylogenetic analysis of bacterial communities present in the anoxic layers of Lake Cadagno continued with the amplification and gene cloning coding for ribosomal RNA 16S. Up until now, 5 cloning series were performed: 3 from samples taken from the chemocline and the monimolimnion (13 and 17 m deep) and the two from anoxic sediments (21 m).

The clone library presently comprises 470 16S ribosomal DNA fragments, cloned in *E. coli* TOP 10F® (Promega, USA ; Invitrogen, USA).

Before performing the complete sequencing of insertions, the inserts retrieved from water samples were screened using restriction fragment analysis (ARDRA), with *HaeIII* and *MboI* enzymes (Promega, USA) (Demarta *et al.*, 1998), the Clone-FISH technique (Schramm *et al.*, 2003) or partial sequencing. This screening resulted in 129 representative clones which were fully sequenced. The phylogenetic tree resulting from the comparative analysis of sequences retrieved from water samples is shown in figure 12.

The two best represented phylogenetic groups are the Gamma group of proteobacteria, mainly composed from amplified 16S rDNA sequences of members of the *Chromatiaceae*, and the Delta group composed of sulfate-reducing bacteria (*Desulfocapsa*, *Desulfomonile*,...).

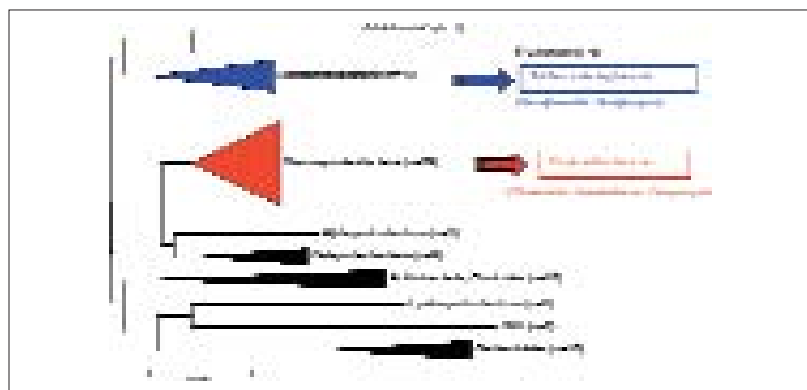


Figure 12: Global phylogenetic tree with 129 16S rRNA fragments (300bp) retrieved from the chemocline and the monimolimnion of Lake Cadagno. The tree gives an overview of the major phylogenetic groups present in the anoxic part of the water column.

With regard to the fragments analyzed, the percentage distribution of the different phylogenetic groups is as follows: *Gamma* 53.5 % ; *Delta* 13.2 % ; *Firmicutes* 7.8 % ; *Bacteroidetes* 7.8 % , *Beta* 6.7 % ; *Chlorobi* 3.9 % , *TM7* 1.6 % and *Acidobacteria* 0.8 % . With the exception of the Alpha group, these data correlate with counts after hybridization when using specific oligonucleotide probes for the different phylogenetic groups (Tonolla *et al.*, 1998a).

The groups of Gram-positive bacteria (*Actinobacteria*, *Firmicutes*) and *Bacteroidetes*

turn out to be well represented in the Lake Cadagno ecosystem and further analyses are necessary. Moreover, a clone is close to the phylum *Acidobacterium*, for which most known sequences originate in the soil and only very few have been isolated from water (Hugenholtz *et al.*, 1998).

Two other sequences were assigned to phylum TM7, a group which comprises 16S rDNA isolated from the soil (Borneman J. and Triplett E. W., 1997), activated sludge and the marine environment (Hugenholtz *et al.*, 1998), as well as from the human oral cavity (Paster *et al.*, 2001).

#### 4.1. The anoxygenic phototrophic sulfur bacteria

Four major populations of purple sulfur bacteria forming a tight cluster with the genus *Lamprocystis*, i.e. *L. purpurea*, *L. roseopersicina*, and two yet uncultured populations D and F were identified after the analyses of 16S rDNA sequences retrieved from the water column of Lake Cadagno. A micro-stratification of these four populations was observed in the redox transition zone, apparently showing different and specific eco-physiological adaptations. Moreover, during a survey performed from October 1998 till August 1999, the annual vertical distribution analyses of the phototrophic bacteria detected with specific probes clearly showed a drastic global decrease during the winter correlated with the significant reduction of the light intensity (from 4 to 0.3  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) at upper edge of the bacterial layer (Tonolla *et al.*, 1999).

Populations D and F detected with probes S453D and S453F represented the majority of purple sulfur bacteria, whereas *C. okenii*, *L. purpurea*, *L. roseopersicina*, or green sulfur bacteria (detected either with probes GSB532 or CHL441) generally were about one order of magnitude lower in concentration. In general all populations displayed different seasonal distributions. *L. roseopersicina* exhibited similar distribution profiles as population F, but in much lower numbers and with a clear peak stratification in March. A significant development of *C. okenii* was only detected in October which is in agreement with previous observations on larger populations in late-summer and fall (Camacho *et al.*, 2001). Day length might influence their development since long dark periods were found to favor growth of large-celled purple sulfur bacteria in competition with small-celled purple sulfur bacteria (van Gemerden, 1974). Populations of green sulfur bacteria that were only slightly higher than those for *Ch. phaeobacteroides* were detected in high numbers in August only. In March, green sulfur bacteria were not detected, but they were present in June and October though in relatively small numbers.

The cell biovolumes of these populations of phototrophic bacteria showed only small seasonal changes. However cells detected with probe Laro453 almost doubled in volume in March and June compared to October samples.

During 1999 the total biomass of phototrophic sulfur bacteria averaged over the whole chemocline increased between March and August by one order of magnitude from 6.33 to 61.37  $\text{mg C ml}^{-1}$ , cells detected with probe S453D (population D) contributed most to the biomass, accounting for about 60% of the total biomass in March, June and August. Due to their small number and size, cells detected with

probe CHLP441 (*Chlorobium phaeobacteroides*) never constituted an important part of the bacterial biomass in the period from 1998 to 1999, always accounting for less than 1 % of the total biomass averaged over the whole chemocline (Tonolla *et al.*, 2002).

The most pronounced microstratification development of purple sulfur bacteria along environmental gradients of light, oxygen and sulfide was obtained in August when defined layers consisting entirely or almost entirely of one single population of small-celled purple sulfur bacteria developed.

A long trend survey of the populations of anoxygenic phototrophic bacteria revealed a substantial change from *Chromatiaceae* (*Chromatium*, *Lamprocystis*) to GSB (*Chlorobium*) after the year 2000 (Tonolla, 2003; Tonolla *et al.*, 2005b). Green sulfur bacteria, initially represented only by *Chlorobium phaeobacteroides* at low densities, were replaced by *Chlorobium clathratiforme* as the only green sulfur bacterium which caused a shift in dominance from purple sulfur bacteria to green sulfur bacteria in the chemocline. At this time, numbers of purple sulfur bacteria had decreased and those of green sulfur bacteria increased by about 1 order of magnitude and *C. clathratiforme* represented about 95% of the phototrophic sulfur bacteria (see figure 13). Due to the invasion of *C. clathratiforme* the total bacteria raised from  $5 \times 10^6$  cells ml<sup>-1</sup> in the year 2001 to  $15 \times 10^6$  cells ml<sup>-1</sup> in year 2002 (Tonolla *et al.*, 2005b).

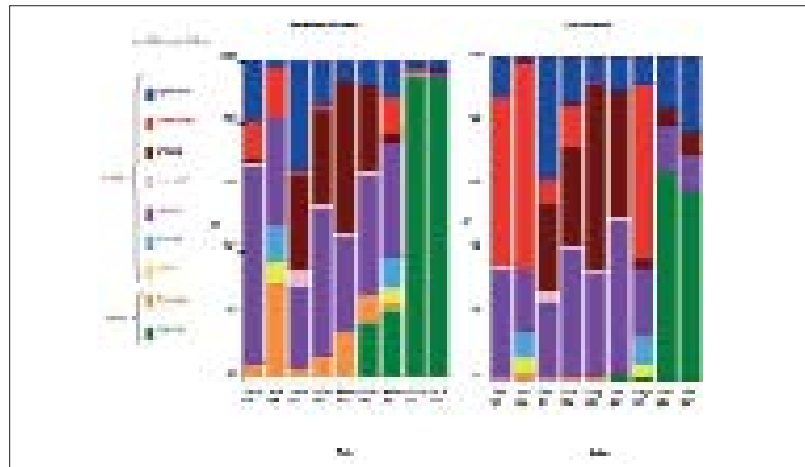


Figure 13: Relative abundance (left: bacterial counts; right: biovolumes) of different populations of phototrophic sulfur bacteria (%) for samples from October 1994 to October 2003 averaged over the whole chemocline of Lake Cadagno. Acronyms represent specific probes for the detection of purple sulfur bacteria (PSB; Cmok453, targeting *Chromatium okenii*; Apur453, Laro453, S453D, and S453F, targeting *Lamprocystis purpurea*, *L. roseopersicina*, and populations D and F, not yet represented by cultured relatives, respectively; and S453H and S448, targeting two populations within the genus *Thiocystis*) and green sulfur bacteria (GSB; Chlc190, targeting *Chlorobium clathratiforme*, and Chlp441, targeting *C. phaeobacteroides*) (Tonolla *et al.*, 2005b).

This major change in community structure in the chemocline was accompanied by changes in profiles of turbidity and photosynthetically available radiation, as well as for sulfide concentrations and total light intensity. Overall, these findings suggest that a disruption probably caused by strong climatic events such as autumnal storms of the chemocline in 2000 may have altered environmental niches and populations in subsequent years (see figure 14).

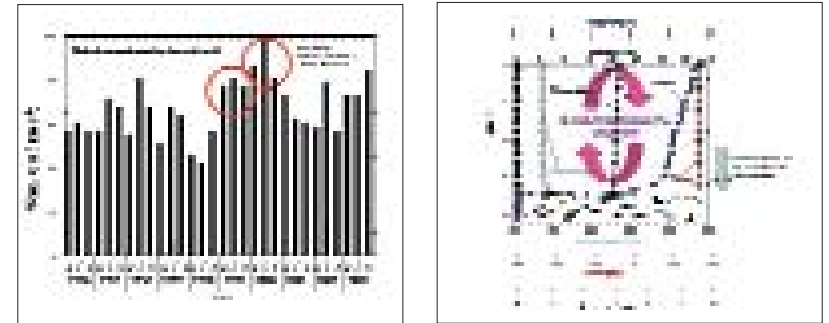


Figure 14: Left: Maximal averaged wind speeds per hour and month in autumn over ten years (1994-2003), red circles evidence maxima values (years 1999 and 2000). Right: Physical and chemical parameters taken the 18th of October 2000 documenting a strong mixing of the upper layer till 17 m depth.

#### 4.2. The sulfate reducing bacteria

Within the chemocline, non-phototrophic bacteria are also present including sulfate-reducing bacteria that account for up to 15% of the total population (Tonolla *et al.*, 1998a). Their seasonal depth distribution was consistent with the variations of the phototrophic purple bacteria. Over an annual cycle, however, differences in abundance of bacteria detected with probes SRB385 (detecting most *Desulfovibrionaceae*) and SRB385Db (detecting most *Desulfobacteriaceae*) were observed. In situ determination of sulfide turnover rates (Luthy *et al.*, 2000) and high-resolution images of sulfide concentrations in the water column (Lehmann & Bachofen, 1999) confirmed the presence of active sulfate-reducing bacteria in the bacterial layer dominated by the purple sulfur bacteria and introduced the possibility of a significant sulfur cycling within the chemocline coupled to a rapid turnover of sulfide (Fritz & Bachofen, 2000). The vertical distribution profiles of sulfate-reducing bacteria detected with probes SRB385 and SRB385Db were similar to those of phototrophic sulfur bacteria and reached on average 24% of the DAPI-stained bacteria in the chemocline. This high percentage shows that sulfate-reducing bacteria made up a significant part of the bacterial population in the chemocline of Lake Cadagno (Tonolla *et al.*, 1998a; Tonolla *et al.*, 1999; Tonolla *et al.*, 2000a). It was also evident that the majority of the sulfate reducing bacteria consisted of one particular morphotype which was present in the cell agglomerates formed by the small celled phototrophs (see figure 15).

### 4.3. Bacterial aggregates of anoxygenic phototrophic sulfur and sulfate reducing bacteria

Comparative 16S rRNA analysis of sequences retrieved from the chemocline of Lake Cadagno also revealed the presence of bacteria closely related to the genus *Desulfocapsa*, that comprise sulfate-reducing bacteria capable of performing sulfur disproportionation as energy yielding process (Bosshard *et al.*, 2000; Tonolla *et al.*, 2000a; Tonolla *et al.*, 2000b).

Two distinct clusters within the  $\delta$ -subdivision of *Proteobacteria* were evident after the phylogenetic tree analyses of the clone library retrieved from the chemocline of Lake Cadagno. Sequences of one cluster consisting of six clones were closely related to that of *Desulfocapsa thiozymogenes* DSM7269 with similarity values between 97.9 and 98.4%. Similarity values of all clones to other sulfate-reducing bacteria that should be detected by hybridization with probe SRB385 such as e.g. *Desulfobulbus elongatus*, *Desulfobacter curvatus*, *Desulfuromonas pigra* and *Desulfovibrio* sp. as well as to other phylogenetic groups were generally below 90%.

These results indicated a limited complexity of populations of sulfate-reducing bacteria detectable with probe SRB385. For FISH analyses two oligonucleotide probes DSC213 and DSC441 were designed targeting the cluster of six clones. Probe DSC213 also targeted the closely related *Desulfocapsa thiozymogenes* DSM7269. A third probe SRB441 was designed to specifically bind to sequences of two other clones forming a separate cluster.

The combination of probes DSC213 and DSC441 targeting the cluster of six clones and the closely related *Desulfocapsa thiozymogenes* DSM7269, only detected cells associated to small-celled phototrophic sulfur bacteria (see figure 14).

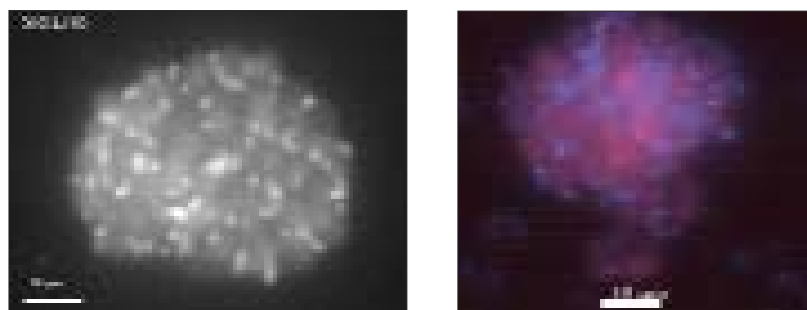


Figure 15: Left: In situ detection of sulfate-reducing bacteria with Cy3-labeled probes SRB385 targeting members of the family *Desulfovibrionaceae*. Cells in the background represent mainly small-celled phototrophic sulfur bacteria exhibiting strong autofluorescent signals. Right: combined images of autofluorescence and DAPI stain of associated small celled purple bacteria belonging to the genus *Lamprocystis* (red) and sulphate reducing bacteria of the genus *Desulfocapsa* (blue).

### 4.4. Pure cultures and co-cultures of anoxygenic phototrophic sulfur and sulfate reducing bacteria

The sulfate reducing bacterium present in the aggregates was isolated (Peduzzi, 2003) applying the cultivation conditions described for *Desulfocapsa thiozymogenes* (Janssen *et al.*, 1996) and following a probe based directed isolation with the specific oligonucleotides DSC213 and DSC441 (Peduzzi *et al.*, 2003). Through comparative sequence analysis of the 16S rRNA gene, the isolated sulfate reducing bacterium, named Cad626, fitted into the  $\delta$ -subdivision of *Proteobacteria* with 99.9% and 99.7% similarity, respectively, to two clones previously retrieved from the chemocline of Lake Cadagno, and with 97.8% similarity to *Desulfocapsa thiozymogenes* DSM7269, the closest cultured relative and the type strain of the genus, which grows by thiosulfate and sulfite disproportionation (Peduzzi *et al.*, 2003). A scavenger for sulfide was not necessary, although its presence (i.e. amorphous FeOOH) reduced the lag phase and resulted in higher growth yields. Sulfur disproportionation that was indicated in the absence of FeOOH by the production of sulfide and sulfate was not accompanied by an increase in cell number. In the presence of FeOOH, Cad626 grew by disproportionation of sulfur. The metabolic characteristics of the isolate Cad626 generally resembled those of *D. thiozymogenes* DSM7269, although it differed from the type strain by its ability to grow on lactate and pyruvate.

The second component of the aggregate, the small celled phototroph, was also isolated from enrichments in liquid media with sulfide as electron donor and acetate as organic carbon source after a series of agar-shake dilutions. All cells of the isolate, named Cad16, were hybridizing to probe S453F, and the sequence analyses of their 16SrDNA gene revealed a 100% similarity to clone 371 (AJ006061) representing population F of small celled purple sulfur bacteria in the chemocline of Lake Cadagno. The highest sequence similarities to cultured relatives were found for *Lamprocystis purpurea* (95.3%) and *L. roseopersicina* (95.4%) (Peduzzi *et al.*, 2003).

Photolithoautotrophic growth of strain Cad16 under anaerobic conditions occurred with hydrogen sulfide and elemental sulfur as electron donors. Globules of sulfur were stored inside the cells as intermediary oxidation products. In the presence of carbon dioxide and sulfide, photoassimilation of acetate was observed. Chemolithoautotrophic growth was observed with hydrogen sulfide or thiosulfate under micro-oxic conditions in the dark. These characteristics correspond to those published for *L. purpurea* DSM4197 and strain LcCad1 (Eichler & Pfennig, 1988).

Both isolated strains (Cad16 and Cad626) when grown together in co-culture (see figure 16), showed cells assembled to aggregates, similar to those observed in the chemocline of Lake Cadagno (Peduzzi *et al.*, 2003). The association was not obligate since about half of the cells of the sulfate reducing bacterium remained non-associated, a situation similarly encountered in the sulfidogenic sediments and in the chemocline of Lake Cadagno during winter and spring when purple sulfur bacteria were significantly reduced in number due to limiting light conditions (Peduzzi *et al.*, 2002). In the presence of large numbers of purple sulfur bacteria in the chemocline during summer and fall, however, most of the *Desulfocapsa*-like sulfate reducing bacteria were associated. Although the association was not highly structured as described for

phototrophic consortia (Overmann & Schubert, 2002), it seemed to be highly specific for all four distinct groups of purple sulfur bacteria of the genus *Lamprocystis*, as confirmed with multiple probe hybridizations (Peduzzi *et al.*, 2002; Tonolla *et al.*, 2002).



Figure 16: Left: Growth of a small-celled purple sulfur bacterium (population F) in pure culture and in co-culture with *Desulfocapsa* sp.. Right: Pure cultures of phototrophic bacteria from Lake Cadagno.

#### 4.5. Methanogenic Archaea and sulfate reducing bacteria in the permanent anoxic sediments of Lake Cadagno.

Concerning the microbial community of the anoxic sediments besides Lake Cadagno the Rotsee (Lucerne, Switzerland) was chosen for studying the interrelation of sulfate-reducing bacteria and methanogenic *Archaea* in sediments which are dominated either by sulfate-reduction (Lake Cadagno) or by methanogenesis (Rotsee). Shifts in the spatial distribution of the microbial communities were identified by DGGE (Bottinelli, 2003). CARD-FISH (catalyzed reporter deposition fluorescent *in situ* hybridization) was used to analyze the densities of the total microbial community, in particular *Archaea*, *Bacteria*, and sulfate-reducing bacteria mainly of the families *Desulfobacteriaceae* and *Desulfovibrionaceae*. Profiles of pH, alkalinity, ammonium, sulfate, sulfide, and methane, as well as other chemical parameters such as total organic carbon (TOC), total nitrogen (TN), total hydrolysable amino acids (THAA) and the relative amounts of individual amino acids and the amino sugar glucosamine which contribute to the total amount of THAA were measured and correlated to the profiles of microbial density.

Large differences between the two lakes were observed concerning the concentrations of TOC and THAA in the top layers of the sediment (twofold at Lake Cadagno compared to Rotsee). The concentrations of TOC and THAA decreased sharply towards deeper layers in Lake Cadagno sediments, but only slightly at Rotsee. These differences may indicate differences in the bioavailability of organic matter in the two sediments.

DGGE profiles (see figure 17) of amplification products of the domain *Bacteria* from samples at different depths in the sediment of Lake Cadagno showed distinctly different patterns considering the number and the migration distances of PCR products within the DGGE gel. In contrast, DGGE profiles of sediment samples from Rotsee indicated two different zones, the water-sediment interface (0-0.5 cm depth) and the part below 0.5 cm. In addition, a spatial variability in the abundance of bacterial phylotypes was observed only between 4.5 cm and 11 cm sediment depths, as the intensities of the bands changed.

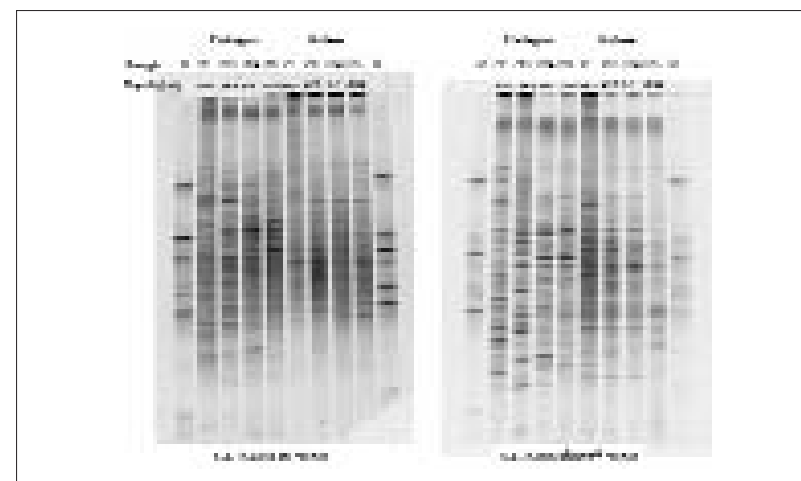


Figure 17: DGGE profiles of bacteria and sulfate reducing bacteria at different depths in the sediments of lakes Cadagno and Rotsee

The community patterns of sulfate-reducing bacteria in the sediment samples of Lake Cadagno resulted in a higher vertical variation in phylotypes compared to the sediment samples of Rotsee. In both sediments, the number of populations of putative sulfate reducing bacteria decreased with the depth. But, the highest number of populations and 13 unique phylotypes were present at Lake Cadagno between the depths of 4.5 and 5 cm.

These differences became evident after the UPGMA analyses of the DGGE banding patterns with a larger variation in number of phylotypes in the sediment samples from Lake Cadagno with a mean clustering value of only 61.3 % compared with those from Rotsee showing an averaged grouping of 74 % (Bottinelli, 2003).

A lower number of phylotypes compared to the bacterial and  $\delta$ -proteobacterial communities was obtained after analyses of 16S rDNA fragments amplified with the primers specific for DNA from *Archaea*. In the sediment of Lake Cadagno their diversity was higher in samples taken at lower depths. This was opposite to the DGGE results of the bacterial and *d-proteobacterial* community which showed the highest diversity

at the sediment-water interface of Rotsee and at 4.5-5 cm depth in the sediments of Lake Cadagno.

The total amount of DAPI stained cells in the sediments of lakes Cadagno and Rotsee ranged both from 3 and 10 ( $\times 10^{10}$  cells [g sediment(dry wt.)<sup>-1</sup>]) at the water-sediment interface to 0.8 and 3 ( $\times 10^{10}$  cells [g sediment (dry wt.)<sup>-1</sup>]) in a depth of 25 cm. Members of the domain *Bacteria* contributed on average for 59 and 15% of the microbial community at lakes Cadagno and Rotsee, respectively. In Lake Cadagno, sediment sulfate-reducing bacteria represented about 55% of the total microbial community and the profiles showed a slight increase in the depth of 10 cm fitting to the zone of highest sulfide concentration. At Rotsee, sulfate-reducing bacteria represented about 10% of the total microbial community and were higher in number compared to *Archaea*, which accounted for 4% of the total cell counts.

The chemical analyses of the pore water clearly indicated that at Lake Cadagno sulfate-reduction is the dominant process of organic matter degradation (Bottinelli, 2003; Hanselmann & Hutter, 1998; Loshner & Kelts, 1989). In the upper sediment layer of Rotsee the sulfate concentrations were above 30  $\mu\text{M}$ , this would allow sulfate-reducers to keep the concentration of acetate too low for growth of methanogens (Lovely & Klug, 1986). However, acetate values of 0.14 mM were measured at Rotsee, compared to low values of 6.4  $\mu\text{M}$  at Lake Cadagno, and sulfate concentrations of 30-60  $\mu\text{M}$  may even allow sulfate-reducing bacteria to dominate in Rotsee sediments. However sulfate concentration alone does not control the predominance of either process, as the critical values for sulfate are between 30 and 2000  $\mu\text{M}$  (Yavitt & Lang, 1990). Methanogens have been identified in Rotsee as well as in Lake Cadagno in large numbers (Bottinelli, 2003; Zepp *et al.*, 1999). In conclusion, so far high amounts of bioavailable organic matter were identified at both lakes, however, with marked differences in the depth profiles of TOC and THAA. Together with differences in both sulfate and acetate concentrations this may cause a higher depth related microbial population diversity in the sediment of Lake Cadagno compared to Rotsee. The latter, however, showed a marked seasonal related diversity in its microbial populations due to the periodical mixing of the waterbody which brings oxygen down to the surface of the deepest sediment during winter (Sahan, 2004). On the other hand this turnover might also be the cause of a reduced amount of OM in the upper sediment layers compared with Lake Cadagno.

A first phylogenetic analysis of more than 100 sequences retrieved from both Lakes Cadagno and Rotsee using a degenerate primer homolog to the target sequences of probes SRB385 and SRB385Db combined with a universal reverse primer revealed the presence of at least 6 known and 4 not yet defined phylogenetic groups (see figure 18). These analyses are ongoing for a deeper understanding of the major clusters.

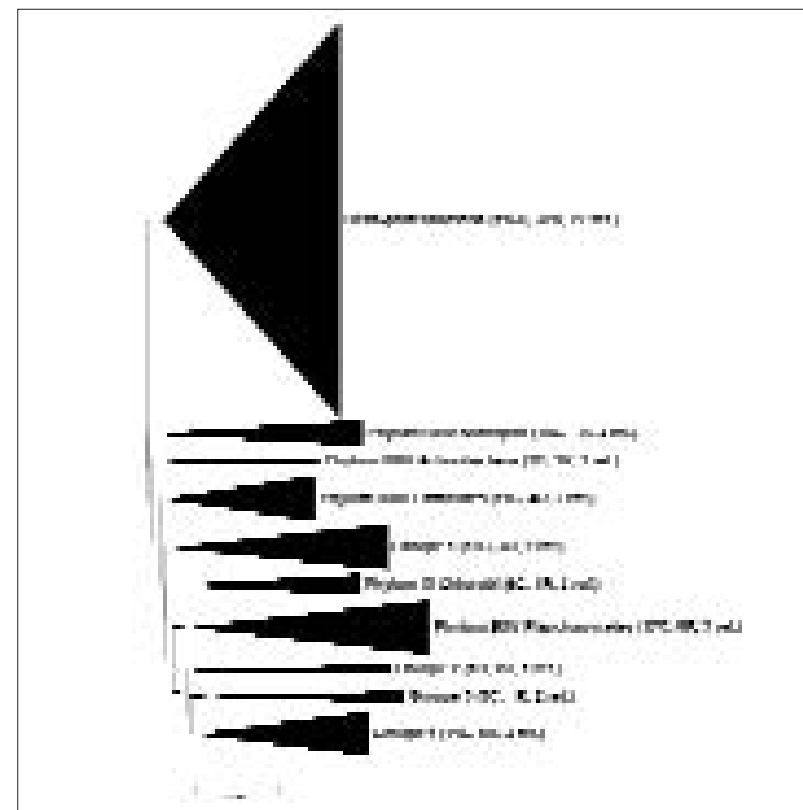


Figure 18: Phylogenetic tree (385 pb, Neighbor-joining) of sequences retrieved from sediments of Lake Cadagno (C) and Rotsee (R). Number of sequences C: Cadagno; R: Rotsee and ref.: number of sequences from the EMBL database.

## 5. Concluding remarks

As the previous chapters clearly show, Lake Cadagno represents a hot spot of high microbial diversity. Moreover a series of scientific data which spans over decades is available offering the possibility of a multidisciplinary approach over a long period of time and a synergistic relationship among the different scientific projects. This for Switzerland unique ecosystem turns out to be an invaluable source of knowledge regarding the ecological role of microorganisms in the environment. It is our responsibility as researchers to act towards the preservation and promotion of this ecosystem which still provides important research findings in the field of microbial ecology.



"If we wish to identify hitherto unidentified microorganisms, the time to do it is now. Habitats that harbor these yet undiscovered microorganisms are disappearing rapidly" this quotation of Colwell R. (Colwell, 2002) is relevant also for the Lake Cadagno. Historical data documented the loss of meromixis in Lake Ritom due to the hydroelectric exploitation and we all are aware of the biological damages caused by the lowering of the Lake Cadagno during the winter.

## Acknowledgments

We thank Prof. R. Bachofen for critical reading of the manuscript and for collaboration.

## References

- Bachmann, H. (1924).** Der Ritomsee. *Schweiz Zeitschr Hydrol* 11, 7-28.
- Bachmann, H. (1928).** Das Phytoplankton der Pioraseen nebst einigen Beiträgen zur Kenntniss des Phytoplanktons schweizerischer Alpenseen. *Schweiz Zeitschr Hydrol* 5, 50-103.
- Barbieri, A. & Mosello, R. (1992).** Chemistry and trophic evolution of Lake Lugano in relation to nutrient budget. In: Barbieri A. and Polli B. (eds.) Limnological aspects and management of Lago di Lugano. *Aquat Sci* 54, 219-237.
- Bensadoun, J.-C. (1995).** Caractérisation et dénombrement par épifluorescence d'une population bactérienne du monimolimnion du Lac de Cadagno (TI). *Travail de diplôme, Université de Genève*.
- Bensadoun, J.-C., Tonolla, M., Demarta, A., Barja, F. & Peduzzi, R. (1998).** Vertical distribution and microscopic characterization of a non-cultivable micro-organism (morphotype R) of Lake Cadagno. In: Peduzzi, R., Bachofen R. and Tonolla M. (eds) Lake Cadagno: a meromictic alpine lake. *Documenta Ist ital Idrobiol* 63, 45-51.
- Bertoni, R., Callieri, C. & Pugnetti, A. (1998).** Dinamica de carbonio organico nel Lago di Cadagno e attività microbiche nel mixolimnion. *Documenta Ist ital Idrobiol* 63, 11-17.
- Birch, L., Hanselmann, K. W. & Bachofen, R. (1996).** Heavy metal conservation in Lake Cadagno sediments: historical record of anthropogenic emissions in a meromictic alpine lake. *Water Res* 30, 679-687.
- Borner, L. (1928a).** Die Bodenfauna des Lago Ritom und seines Deltagebiets vor der Absenkung (1916) I. *Schweiz Zeitschr Hydrol* 4, 121-162.
- Borner, L. (1928b).** Die Bodenfauna des Lago Ritom und seines Deltagebiets vor der Absenkung (1916) II. *Schweiz Zeitschr Hydrol* 4, 1-30.
- Bossard, P., Gammeter, S., Lehman, C., Schanz, F., Bachofen, R., Gürgi, H.-R., Steiner, D. & Zimmermann, U. (2001).** Limnological description of the lakes Zürich, Lucerne, and Cadagno. *Aquat Sci* 63, 225-249.
- Bosshard, P. P., Santini, Y., Gräter, D., Stettler, R. & Bachofen, R. (2000).** Bacterial diversity and community composition in the chemocline of in the meromictic Lake Cadagno as revealed by 16S rDNA analysis. *FEMS Microbiol Ecol* 31, 173-182.
- Bottinelli, M. (2006).** Approche moléculaire à l'étude des bactéries sulfatoreductrices et *Archaea* méthanogènes dans les sédiments des lacs Cadagno et Rotsee. PhD Thesis University of Geneva.
- Boucherle, M. M. & Züllig, H. (1988).** Lago Cadagno: An environmental history. In *Lake, Mire and River Environments*, pp. 3-7. Edited by L. S. (eds): Balkema, Rotterdam.
- Bourcart, F. (1906).** Les lacs alpins suisses, étude chimique et physique. *Thèse présentée à l'Université de Genève Georg & Co Editeurs*.
- Brosius, J., Ullrich, A., Raker, M. A., Gray, A., Dull, T. J. & Noller, H. F. (1981).** Construction and fine mapping of the recombinant plasmids containing the *rrnB* ribosomal RNA operon of *E. coli*. *Plasmid* 6, 112-118.
- Burckhardt, G. (1910).** Das Plankton des Lago Ritom unter dem Einfluss der Schwefelquellen. *Verhandl Schweiz Naturforsch Ges* 93, 302-303.
- Caldwell, D. E. & Tiedje, J. M. (1975a).** The structure of anaerobic bacterial communities in the hypolimnia of several michigan lakes. *Can J Microbiol* 21, 377-385.
- Caldwell, D. E. & Tiedje, J. M. (1975b).** A morphological study of anaerobic bacteria from the hypolimnia of two Michigan lakes. *Can J Microbiol* 21, 362-376.
- Camacho, A., Vicente, E. & M., M. (2000).** Spatio-temporal distribution and growth dynamics of phototrophic sulfur bacteria populations in the sulfide-rich Lake Arcas. *Aquat Sci* 62, 334-349.
- Camacho, A., Erez, J., Chicote, A., Florin, M., Squires, M. M., Lehmann, C. & Bachofen, R. (2001).** Microbial microstratification, inorganic carbon photoassimilation and dark carbon fixation at the chemocline of the meromictic Lake Cadagno (Switzerland) and its relevance to the food web. *Aquat Sci* 63.
- Clark, A. E. & Walsby, A. E. (1978a).** The development and vertical distribution of populations of gas-vacuolate bacteria in a eutrophic, monomictic lake. *Arch Microbiol* 118, 229-233.
- Clark, A. E. & Walsby, A. E. (1978b).** The occurrence of gas-vacuolate bacteria in lakes. *Arch Microbiol* 118, 223-228.
- Cloern, J. E., Cole, B. E. & R.S., O. (1983).** Autotrophic processes in meromictic Big Soda Lake, Nevada. *Limnol Oceanogr* 28, 1049-1061.
- Collet, L. W. & Mellet, R. e. G., C. (1918).** Le lac Ritom. Département suisse de l'intérieur. *Communication du service des eaux (Dr C Mutzner)* Berne 13.
- Colwell, R. R. (2002).** The future of microbial diversity research. In *Biodiversity of Microbial Life: Foundation of Earth's Biosphere*, pp. 552. Edited by J. T. Staley. New York: Academic Press.
- Del Don, C. (1986).** L'azione degli zolfobatteri fotosintetici nella zona di transizione ossidoriduzione del Lago meromittico di Cadagno: riciclaggio delle sostanze nutritive e conseguenze sull'ecosistema del lago. In *Abt Mikrobiologie e Istituto Cantonale Batteriologico, Lugano: Zürich*.
- Del Don, C., Hanselmann, K. W., Peduzzi, R. & Bachofen, R. (2001).** The meromictic alpine Lake Cadagno: Orographycal and biogeochemical description. *Aquat Sci* 63, 70-90.
- Delebeque, A. (1898).** Les lacs fran\_ais. Chamerot & Renouard. Paris,. 436p.

- Demarta, A., Tonolla, M., Caminda, A.-P., Ruggeri, N. & Peduzzi, R. (1998).** Phylogenetic diversity of the bacterial community from the anoxic layer of the meromictic Lake Cadagno. *Doc Ist Ital Idrobiol* 63, 19-30.
- DeWeerd, K. A., Mandelco, L., Tanner, R. S., Woese, C. R. & Suflita, J. M. (1990).** Desulfomonile tiedjei gen. nov. and sp. nov., a novel anaerobic, dehalogenating, sulfate-reducing bacterium. *Arch Microbiol* 154, 23-30.
- Düggeli, M. (1924).** Hydrobiologische Untersuchungen im Pioragebiet. Bakteriologische Untersuchungen am Ritomsee. *Schweiz Zeitschr Hydrol* 2, 62-205.
- Egli, K., Wiggli, M., Klug, J. & Bachofen, R. (1998).** Spatial and temporal dynamics of the cell density in a plume of phototrophic microorganisms in their natural environment. *Doc Ist Ital Idrobiol* 63, 121-126.
- Eichler, B. & Pfennig, N. (1988).** A new purple sulfur bacterium from stratified freshwater lakes, *Amoebobacter purpureus* sp. nov. *Arch Microbiol* 149, 395-400.
- Finster, K., Liesack, W. & B., T. (1998).** Elemental sulfur and thiosulfate disproportionation by *Desulfocapsa sulfoexigens* sp. nov., a new anaerobic bacterium isolated from marine surface sediment. *Appl Environ Microbiol* 64, 119-125.
- Fischer, C., M., W., F., S., Hanselmann, K. W. & Bachofen, R. (1996).** Light environment and synthesis of bacteriochlorophyll by populations of *Chromatium okenii* under natural environmental conditions. *FEMS Microbiol Ecol* 21, 1-9.
- Friedl, C. (1987).** Ursachen von zeitlichen Veränderungen des Tiefenprofils der Photosynthese-Effizienz im meromictischen Cadagno-see. In *Abt Mikrobiologie: Zürich*.
- Fritz, M. & Bachofen, R. (2000).** Volatile organic sulfur compounds in a meromictic alpine lake. *Acta Hydrochim Hydrobiol* 28, 185-192.
- Garwood, E. J. (1906).** The tarns of canton Ticino. *Quart Journ geol Soc* 62, 165-195.
- Hadas, O. N., Malinski-Rushanski, N., Pinkas, R., Halicz, E. & Erez, J. (2000).** High chemoautotrophic primary production across a transect in Lake Kinneret, Israel. *Arch Hydrobiol Spec Issues Advanc Limnol* 55, 413-420.
- Hanselmann, K. & Hutter, R. (1998).** Geomicrobiological coupling of sulfur and iron cycling in anoxic sediments of a meromictic lake: sulfate reduction and sulfide sources and sinks in Lake Cadagno. *Doc Ist Ital Idrobiol* 63, 85-98.
- Hugenholtz, P., Goebel, B. M. & Pace, N. (1998).** Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J Bacteriol* 180, 4765-4774.
- Imhoff, J. F. (2001).** Transfer of *Pfennigia purpurea* Tindall 1999 (*Amoebobacter purpureus* Eichler and Pfennig 1988) to the genus *Lamprocystis* as *Lamprocystis purpurea* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 51, 1699-1701.
- Janssen, P. H., Schuhmann, A., Bak, F. & Liesack, W. (1996).** Disproportionation of inorganic sulfur compounds by the sulfate-reducing bacterium *Desulfocapsa thiozymogenes* gen. nov., sp. nov. *Arch Microbiol* 166, 184-192.
- Knoll-Heitz, F. (1991).** Piora. *Concetto per la conservazione di un paesaggio*.
- Krige, L. J. (1918).** Petrographische Untersuchungen im Val Piora und Umgebung. *Ecologiae geologicae Helveticae* 14, 549-654.
- Lehmann, C. & Bachofen, R. (1999).** Images of concentrations of dissolved sulphide in the sediment of a lake and implications for internal sulphur cycling. *Sedimentol* 46, 537-544.
- Loshner, A. (1989).** The sulfur cycle in freshwater sediments and implications for the use of C/S ratios as indicators of post environmental changes. PhD Thesis, EAWA, ETH Zürich.
- Loshner, A. J. & Kelts, K. R. (1989).** The Role of Organic Matter in the Fixation of Sulfur in Freshwater Lake Sediments. In *Water-Rock Interaction (WRI-6)*, pp. 449-451. Edited by D. L. Miles-Douglas: A.A. Balkema, Rotterdam.
- Lovely, D. R. & Klug, M. J. (1986).** Model for the distribution of sulfate reduction and methanogenesis in freshwater sediments. *Geochim Acta* 50, 11-18.
- Lovely, D. R. & Phillips, E. J. P. (1994).** Novel processes for anaerobic sulfate reduction from elemental sulfur by sulfate-reducing bacteria. *Appl Environ Microbiol* 60, 2394-2399.
- Luthy, L., Fritz, M. & Bachofen, R. (2000).** In situ determination of sulfide turnover rates in a meromictic alpine lake. *Appl Environ Microbiol* 66, 712-717.
- Marrer, H. (1975).** Zur fischereilichen Bewirtschaftung meromiktischer Alpenseen (Lago di Cadagno, Tessin). *Schweiz Z für Hydrol* 37, 213-219.
- Oberhäuser-Nehls, R., Anagnostidis, K. & Overbeck, J. (1994).** Phototrophic bacteria in the Plussee: ecology of the sulfuretum. In *Microbial ecology of lake Plussee*, pp. 287-325. Edited by O. J. C. R.J: Springer-Verlag.
- Otz, M. H., Otz, H. K., Otz, I. & Siegel, D. I. (2003).** Surface water/groundwater interaction in the Piora Aquifer, Switzerland: evidence from dye tracing tests. *Hydrogeol J* 11, 228-239.
- Overmann, J. & Pfennig, N. (1992).** Buoyancy regulation; aggregate formation in *Amoebobacter purpureus* from Mahoney Lake. *FEMS Microbiol Ecol* 101, 67-79.
- Overmann, J. & Schubert, K. (2002).** Phototrophic consortia: Model systems for symbiotic interrelations between prokaryotes. *Arch Microbiol* 177, 201-208.
- Parkin, T. B. & Brock, T. D. (1981).** The role of phototrophic bacteria in the sulfur cycle of a meromictic lake. *Limnol Oceanogr* 26, 880-890.
- Pasini, P. & Schanz, F. (1998).** Influence of UV-radiation on the primary production of two high mountain lakes in the Piora Region. *Documenta Ist Ital Idrobiol* 63, 65-70.
- Pasini, P. (1999).** UVB-Strahlung und Photosynthese-Hemmung im Zürichsee, sowie in den Hochgebirgsseen Lago di Cadagno und Lago Scuro. Diplomarbeit, Universität Zürich.
- Paster, B. J., Boches, S. K., Galvin, J. L., Ericson, R. E., Lau, C. N., Levanos, V. A., Sahasrabudhe, A. & Dewhirst, F. E. (2001).** Bacterial diversity in subgingival plaque. *J Bacteriol* 183, 3770-3783.
- Pedros-Aliò, C. & Guerriero, R. (1993).** Microbial ecology in Lake Ciso. *Adv Microb Ecol* 13, 155-209.
- Peduzzi, R. (1981).** Studio sull'eutrofizzazione del Lago di Lugano. Rapporti Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere, Campagna 1981.
- Peduzzi, R., Demarta, A. & Tonolla, M. (1982-2003).** Cours pratique d'hydrobiologie microbienne.: Centre de Biologie Alpine de Piora, Laboratoire d'Ecologie Microbienne de l'Université de Genève. Archives du Centre de Biologie Alpine de Piora.
- Peduzzi, R., Bachofen, R. & Tonolla, M. (1998).** Lake Cadagno: a meromictic alpine lake. *Documenta Ist Ital Idrobiol* 63, 152 pp.
- Peduzzi, R. (2000).** Piora e San Gottardo, due secoli di ricerca scientifica. In: Peduzzi R. (ed.) *La ricerca alpina e le trasversali. Atti delle 178a assemblea annuale dell'ASSN 1998. Documenta Centro di Biologia Alpina, Piora 1*, 17-25.

- Peduzzi, S., Tonolla, M. & Hahn, D. (2002).** Vertical distribution of sulfate-reducing bacteria in the chemocline of Lake Cadagno, Switzerland, over an annual cycle. *Aquat Microb Ecol* 30, 295-302.
- Peduzzi, S. (2003).** Interaction among sulfate-reducing; purple sulfur bacteria in the chemocline of meromictic Lake Cadagno, Switzerland. PhD Thesis EAWAG, ETH Zürich.
- Peduzzi, S., Tonolla, M. & Hahn, D. (2003).** Isolation and characterization of aggregate-forming sulfate-reducing and purple sulfur bacteria from the chemocline of meromictic Lake Cadagno, Switzerland. *FEMS Microb Ecol* 45, 29-37.
- Putschew, A., Scholz-Bättcher, B. M. & Rullkötter, J. (1995).** Organic geochemistry of sulfur-rich surface sediments of meromictic lake Cadagno, Swiss Alps. In: Vairavamurthy M.A.; Schoonen M.A.A. (eds): Geochemical transformations of sedimentary sulfur. ACS Symposium Series 612. Oxford press, 59-78.
- Ramsing, N. B., Fossing, H., Felderman, T. G., Andersen, F. & Thamdrup, B. (1996).** Distribution of bacterial populations in a stratified fjord (Mariager Fjord, Denmark) quantified by in situ hybridization; related chemical gradients in water column. *Appl Environ Microbiol* 62, 1391-1404.
- Sahan, E. (2004).** Interrelations of methanogens and sulfate-reducing bacteria in sediments of through-flow and stratified lakes: ETH Zürich.
- Schanz, F. (1985).** Vertical light attenuation; phytoplankton development in Lake Zürich. *Limnol Oceanogr* 30, 299-310.
- Schanz, F. & Friedl, C. (1993).** Environmental effects on light utilization by phytoplankton in a meromictic alpine lake. *Verh Int Verein Limnol* 25, 621-624.
- Schanz, F., Fischer-Romero, C. & Bachofen, R. (1998).** Photosynthetic production; photoadaptatin of phototrophic sulfur bacteria in Lake Cadagno (Switzerland). *Limnol Oceanogr* 43, 1262-1269.
- Schanz, F. & Stalder, S. (1998).** Phytoplankton summer dynamics; sedimentation in the themally stratified Lake Cadagno. *Documenta Ist ital Idrobiol* 63, 71-76.
- Schramm, A., Fuchs, B. M., Nielsen, J. L., Tonolla, M. & Stahl, D. (2003).** Fluorescence in situ hybridization of 16S rRNA gene clones (Clone-FISH) for probe validation; screening of clone libraries. *Environ Microbiol* 4, 713-720.
- Serra, T., Colomer, J., Soler, M. & Vila, X. (2003).** Spatio-temporal heterogeneity in a planktonic Thiocystis minor population, studied by laser in situ particle analysis. *Freshwater Biol* 48, 698-708.
- Shelton, D. R. & Tiedje, J. M. (1984).** Isolation and partial characterization of bacteria in an anaerobic consortium that mineralizes 3-chlorobenzoic acid. *Appl Environ Microbiol* 48, 840-848.
- Shively, J. M. & Barton, L. L. (1991).** *Variations in autotrophic life*. London: Academic Press.
- Sorokin, Y. I. (1970).** Interrelations between sulphur; carbon turnover in meromictic lakes. *Arch Hydrobiol* 66, 391-446.
- Stapfer, A. (1991).** Pollenanalytische Untersuchungen im Val Piora (Tessin). Ein Beitrag zur Klima und Vegetationsgeschichte der Nacheiszeit. *Geogr Helv* 46, 156-164.
- Surbeck, G. (1917).** über die Fische des Ritom-, Cadagno- und Tomsees in Val Piora. *Verh Schweiz Natur Ges* 99, 264-265.
- Thamdrup, B., Finster, K., Hansen, J. W. & Bak, F. (1993).** Bacterial disproportionation of elemental sulfur coupled to chemical reduction of iron or manganese. *Appl Environ Microbiol* 59, 101-108.
- Tindall, B. J. (1999).** Taxonomic note: transfer of *Amoebobacter purpureus* to the genus *Pfennigia* gen. nov., as *Pfennigia purpurea* comb. nov., on the basis of the illegitimate proposal to make *Amoebobacter purpureus* the type species of the genus *Amoebobacter*. *Int J Syst Bacteriol* 49, 1307-1308.
- Tonolla, M. (1987).** Ueber das photochemotaktische Verhalten von Purpurschwefel-bakterien in ihrer natürlichen Umgebung. In *Abt Mikrobiologie*, pp. 93 pp.: Zürich.
- Tonolla, M., Del Don, C., Boscolo, P. & Peduzzi, R. (1988).** The problem of fish management in an artificially regulated meromictic lake: lake Cadagno (Canton Tessin, Switzerland). *Riv It Acquacoltura* 23, 57-68.
- Tonolla, M., Demarta, A., Hahn, D. & Peduzzi, R. (1998a).** Microscopic; molecular in situ characterization of bacterial populations in the meromictic Lake Cadagno. *Documenta Ist ital Idrobiol* 63, 31-44.
- Tonolla, M., Demarta, A. & Peduzzi, R. (1998b).** The chemistry of lake Cadagno. *Documenta Ist ital Idrobiol* 63, 11-17.
- Tonolla, M., Demarta, A., Peduzzi, R. & Hahn, D. (1999).** In situ analysis of phototrophic sulfur bacteria in the chemocline of meromictic Lake Cadagno (Switzerland). *Appl Environ Microbiol* 65, 1325-1330.
- Tonolla, M., Demarta, A., Peduzzi, S., Hahn, D. & Peduzzi, R. (2000a).** In situ analysis of sulfate-reducing bacteria related to *Desulfocapsa thiozymogenes* in the chemocline of meromictic Lake Cadagno (Switzerland). *Appl Environ Microbiol* 66, 820-824.
- Tonolla, M., Demarta, A., Peduzzi, S., Hahn, D. & Peduzzi, R. (2000b).** In Situ Analysis of Sulfate-Reducing Bacteria Related to *Desulfocapsa thiozymogenes* in the Chemocline of Meromictic Lake Cadagno (Switzerland). *Appl Environ Microbiol* 66, 820-824.
- Tonolla, M., Demarta, A. & Peduzzi, R. (2002).** Characterization and in situ detection of *Desulfomonile* sp. in the anoxic layers of a meromictic alpine lake (lake cadaagno). In *61st Annual Assembly of Swiss Society for Microbiology, Feb 20/21*. Edited by S. S. f. Microbiology. Lucern.
- Tonolla, M., Bottinelli, M., Demarta, A., Peduzzi, R. & Hahn, D. (2005a).** Molecular identification of an uncultured bacterium ("morphotype R") in meromictic Lake Cadagno, Switzerland. *FEMS Microbiology Ecology* 53, 235-244.
- Tonolla, M., Peduzzi, R. & Hahn, D. (2005b).** Long-Term Population Dynamics of Phototrophic Sulfur Bacteria in the Chemocline of Lake Cadagno, Switzerland. *Appl Environ Microbiol* 71, 3544-3550.
- van Gernerden, H. (1974).** Coexistence of organisms competing for the same substrate: an example among the purple sulfur bacteria. *Microb Ecol* 1, 104-119.
- van Gernerden, H. & Mas, J. (1995).** Ecology of phototrophic sulfur bacteria. In *Anoxygenic photosynthetic bacteria*, pp. 49-85. Edited by R. E. Blankenship, M. T. Madigan & B. C. E. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., The Netherlands.
- Wüest, A. (1994).** Interaktionen in Seen: Die Biologie als Quelle dominanter physikalischer Kräfte. *Limnologica* 24, 93-104.

**Yavitt, J. B. & Lang, G. E. (1990).** Methane production in contrasting wetland sites: response to organic- chemical components of peat and to sulfate reduction. *Geomicrobiol J* 8, 27-46.

**Zepp, F., K., Holliger, C., Großkopf, R., Liesack, W., Nozhevnikova, A. N., Müller, B., Wehri, B. & Hahn, D. (1999).** Vertical distribution of methanogens in the anoxic sediment of Rotsee (Switzerland). *Appl Environ Microbiol* 65, 2402-2408.

**Züllig, H. (1985).** Pigmente phototropher Bakterien in Seesedimenten und ihre Bedeutung für die Seeforschung. *Schweiz Zeitschr Hydrobiol* 47, 87-126.

## **B. Ecologie nivale**

### **Bischoff Yannick**

On considère souvent la neige comme le symbole même de la pureté. Pourtant, cette image est mise à mal lorsque l'on sait que la neige peut paraître rouge, verte ou encore orange à cause de la présence de microorganismes: les algues de neige. Plus extraordinaire encore: en plus d'être peuplée d'algues, la neige abrite aussi bactéries, protozoaires, champignons, vers ou insectes, formant un véritable écosystème à l'intérieur du manteau neigeux.

Nous mentionnerons ici les conditions rencontrées dans ce milieu réputé extrême, l'organisation de l'écosystème neige, puis nous finirons par décrire le cycle de vie des algues de neige et ses questions en suspens.

### **1. Description du Milieu**

La neige est un milieu hétérogène constitué de glace, d'eau et d'air. Sa microstructure, d'abord sous la forme de fines étoiles change ensuite tout au long de l'hiver pour tendre vers des formes plus arrondies et plus denses. C'est la métamorphose de la neige (Colbeck, 1987). Du fait de cette évolution, le manteau neigeux se compose de multiples couches superposées allant de la neige fraîche à la couche de glace. C'est la stratification de la neige. De plus, lors de la fonte, l'écoulement de l'eau n'est pas homogène et emprunte des chemins préférentiels (Pielmeier, 2003).

La répartition de l'eau liquide dans la neige à l'échelle microscopique peut être répartie en deux régimes séparés. Dans le premier cas, avec une proportion d'eau liquide normale (4% à 5% du volume), 80% de l'eau liquide reste enfermé par capillarité dans des ménisques situés au contact entre les grains de glace, tandis que le cinquième restant se répartit sous la forme d'un film liquide entourant les grains de neige (Brzoska *et al.*, 1998). Dans le second cas, la quantité d'eau dépasse la capacité de rétention de la neige et l'eau s'écoule. A l'extrême, comme dans les chemins préférentiels cités plus haut, les pores de la neige peuvent être totalement saturés en eau (Wakahama, 1968).

Dans nos régions, les températures rencontrées dans la neige varient généralement entre  $-40^{\circ}\text{C}$  et  $0^{\circ}$ . Du fait que la neige est un bon isolant thermique, un gradient de température existe donc souvent entre le froid de la température ambiante en surface et le sol où la température reste généralement autour de  $0^{\circ}\text{C}$ . Au printemps pourtant, lorsque la neige fond et que de l'eau est présente dans le manteaux neigeux, sa température est uniformément égale à  $0^{\circ}\text{C}$ .

Si la lumière peut être très intense en surface et néfaste aux organismes à cause du rayonnement ultraviolet, elle pénètre différemment dans la neige selon sa longueur

d'onde et les caractéristiques de la neige. Si les ultraviolets ne sont plus détectables sous 8 cm de neige déjà, la lumière visible pénètre plus profondément puisque au printemps (neige mouillée) on retrouve encore 1% de la radiation de surface à 110 cm de profondeur. (Curl *et al.*, 1972; Gorton and Vogelmann, 2003).

La présence de nutriments est une question critique pour les organismes vivant dans la neige. Comme on s'y attend, les concentrations de nutriments sont faibles (Jones, 1991), spécialement pour les phosphates qui sont le facteur de croissance limitant dans bien des cas (Hoham and Duval, 2001). Par contre, lors de la première fonte, tous les éléments peu liés au cristal de glace sont emportés par les premiers ruissellements d'eau provoquant un pic ionique important (Devarenes, 1994).

Les nutriments proviennent de l'atmosphère (pendant et après la chute de neige), d'apports par le vent tels que le sable du Sahara, de la présence de couverture végétale (débris végétaux, lixiviation), de la présence de gros animaux (poils, poussières, excréments) ou encore de la microbiologie du sol (Jones, 1999; Schwikowski *et al.*, 1997; Tranter and Jones, 2001).

Ajoutons encore que les conditions varient très fortement et vont jusqu'à la disparition totale du manteau neigeux. Les organismes de la neige doivent par conséquent survivre au froid et au chaud (par exemple sur le sol en l'absence de neige), à une radiation solaire intense tout comme à l'obscurité, aux changements de la micro-structure (une couche de glace peut être un obstacle infranchissable) et faire face au manque de nutriments.

## 2. L'Ecosystème

Malgré ces conditions difficiles, une multitude d'organismes ont élu domicile dans la neige (Hoham and Duval, 2001; Leya *et al.*, 2000). Leur survie est uniquement possible parce qu'ils se sont organisés en un écosystème complet. Les algues de neige, organismes photosynthétiques, jouent le rôle de producteurs primaires. Protozoaires, rotifères, insectes, vers de neige ou araignées jouent le rôle des consommateurs en se nourrissant des algues. Finalement des bactéries et des champignons minéralisent le carbone organique produit (Hoham, 1989).

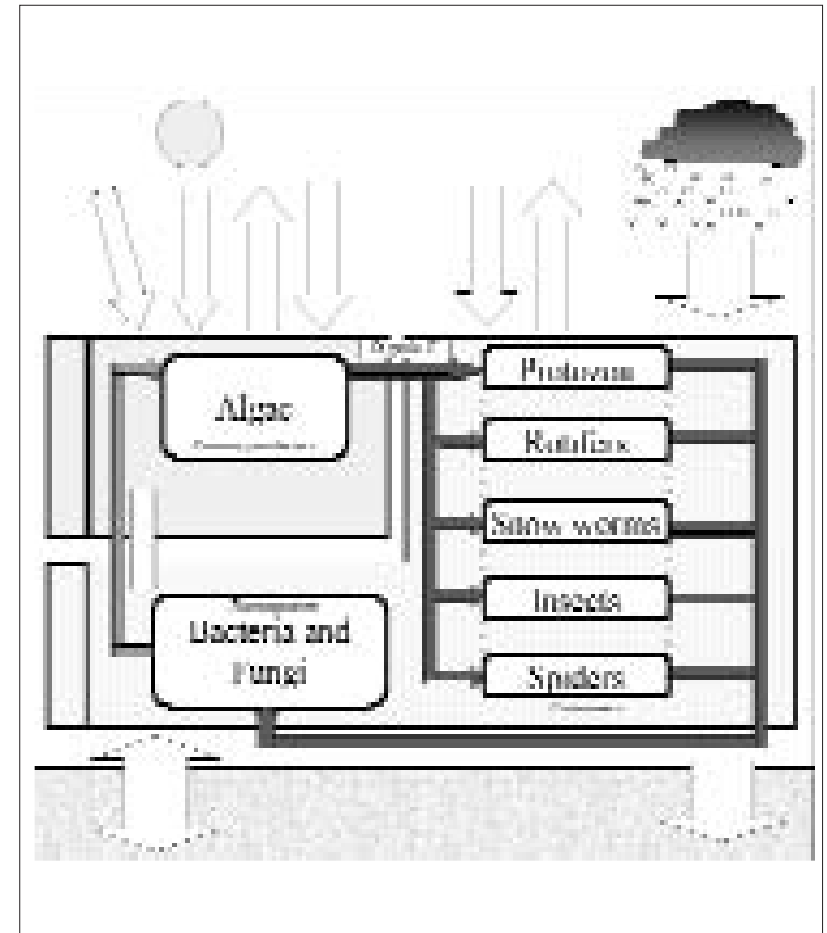


Figure 1: Fonctionnement de l'écosystème neige et échanges avec l'environnement

## 3. Le Cycle de Vie des Algues de Neige

Leur rôle dans l'écosystème neige est fondamental. Ce sont en effet les seules à pouvoir faire de la photosynthèse et assurent donc à elles seules le rôle de producteurs primaires. Le nombre d'espèces d'algues de neige répertoriées à ce jour est de 350 (Kol, 1968). Elles peuvent colorer la neige de différentes couleurs. Typiquement, on trouvera des espèces telles que *Chlamydomonas nivalis* (neige rouge) au-dessus de

la limite de la forêt, là où le rayonnement solaire est intense. Tandis que la neige verte, par exemple causée par *Chloromonas nivalis*, sera mieux représentée dans les zones plus ombragées telles que les forêts, profitant également d'un apport de nutriment plus important (Hoham and Duval, 2001).

Les algues de neige, comme décrit ici *Chlamydomonas nivalis*, se sont admirablement adaptées au rythme saisonnier des régions à neige. Avant les premières neiges et pendant tout l'été, les algues de neige sont sous forme de spores sphériques de 15 à 50 µm de diamètre. Ces spores peuvent survivre à de nombreuses années de dessiccation, au froid et au rayonnement UV (Gorton and Vogelmann, 2003). Pendant la plus grande partie de l'hiver, les spores restent en attente sous la neige où l'absence de lumière et d'eau liquide bloque tout développement.

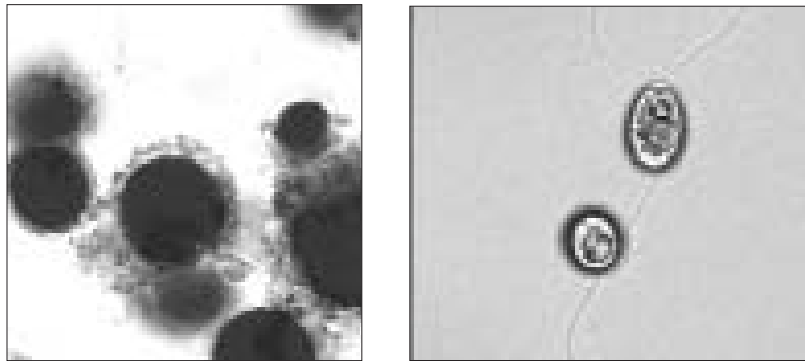


Figure 2 : Spores rouges de *Chlamydomonas nivalis* et cellules végétatives flagellées de *Chlamydomonas augustae* (SAG 26.86)

La germination des spores intervient au printemps lorsque la fonte de la neige induit (1) une plus grande pénétration de la lumière dans la neige due à la diminution du manteau neigeux et à la transformation de la neige (Warren, 1982), (2) à la présence d'eau liquide (3) au pic ionique (Davies *et al.*, 1987). Chaque spore émet 4 cellules vertes d'environ 10 µm de diamètre, munies de deux flagelles (Kawecka and Drake, 1978). Les algues flagellées migrent ensuite vers la surface pour atteindre des niveaux d'énergie suffisants à la photosynthèse et à la croissance. Cette phase de croissance dure au mieux quelques semaines. Ensuite, à cause du rayonnement UV intense et du manque de nutriments, les algues produisent des pigments rouges servant de protection contre les UV (Bidigare *et al.*, 1993) et reforment des spores (Hoham, 1980). Pendant la fonte, les spores restent à la surface de la neige (Grinde, 1983), ce qui explique leur concentration et l'apparition de taches colorées en surface. Après la fonte totale du manteau neigeux, les spores se retrouvent sur le sol et attendent l'hiver prochain.

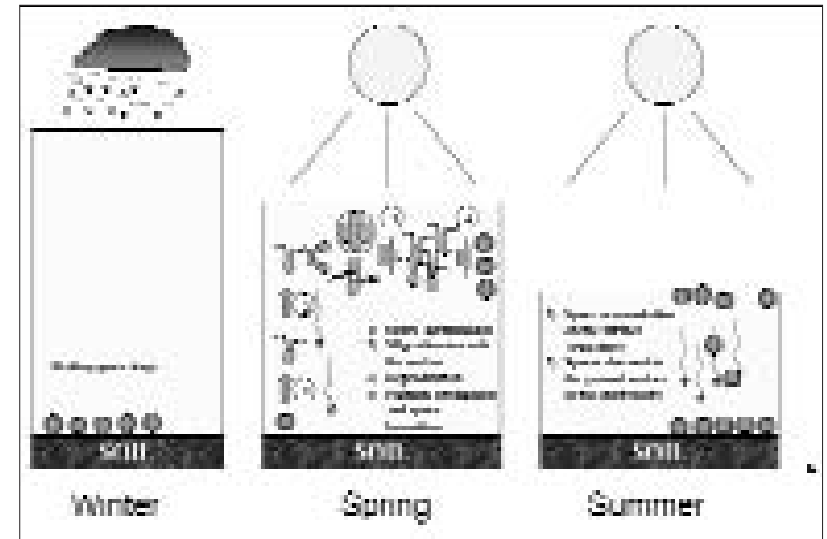


Figure 3: Cycle annuel de *Chlamydomonas nivalis*

#### 4. Questions en Suspens

La migration des algues de neige du sol vers la surface est un élément indispensable de leur cycle de vie. Sans elle, les algues sont incapables de se reproduire faute de lumière. Bien qu'elles soient munies de deux flagelles, il n'est pas encore clair comment les algues parviennent à se déplacer dans le manteau neigeux. L'hypothèse généralement admise est que les algues nagent dans un film d'eau entourant les cristaux de neige (Grinde, 1983; Hoham *et al.*, 1998; Painter *et al.*, 2001). Malheureusement, le comportement de l'eau liquide présenté plus haut montre une contradiction. Dans le cas d'une neige normalement humide, le film d'eau entourant les grains est environ 10 fois trop petit pour que les algues puissent y nager librement. Dans le cas d'une neige saturée d'eau, l'eau s'écoule de 60 à 300 fois plus vite que la vitesse de nage des algues (0.1 à 0.2 mm/s (Harris, 1989)). L'hypothèse proposée semble donc trop simpliste.

Un projet, financé par le Fond National Suisse, en partenariat avec l'institut Cantonal de Microbiologie de Bellinzona (ICM) et l'Institut fédéral pour l'étude de la neige et des avalanches (SLF) étudie actuellement cette migration. Il s'agit en particulier de définir le comportement des algues de neige dans l'eau, sur une surface de glace et dans la neige à la fois par des essais sur le terrain et par des expériences en laboratoire.

## Références

- Bigigare, R.R., et al. (1993).** Evidence for photoprotective function for secondary carotenoids of snow algae. *Journal of Phycology*, 29, 427-434.
- Brzoska, J.B., Coléou, C., Lesaffre, B. (1998).** Thin-sectioning of wet snow after flash freezing. *Journal of Glaciology*, 44 (146), 54-62.
- Colbeck, S.C. (1987).** Snow metamorphism and classification, in *Seasonal Snowcovers: Physics, Chemistry, Hydrology*, H.G. Jones and W.J. Orville-Thomas, Editors. D. Reidel Publ. Comp.: Dordrecht. Vol C211: 1-35.
- Curl, H., Hardy, J.T., Ellermeier, R. (1972).** Spectral absorption of solar radiation in alpine snow fields. *Ecology*, 53, 1189-1194.
- Davies, T.D., et al. (1987).** The removal of soluble ions from melting snowpacs, in *Seasonal Snowcovers: Physics, Chemistry, Hydrology*, H.G. Jones and W.J. Orville-Thomas, Editors. D.Reidel Publ. Comp.: Dordrecht. Vol C211: 337-392.
- Devarennnes, G. (1994).** *Effet de la neige artificielle sur des écosystèmes montagneux*. Maîtrise en sciences de l'eau, PhD Thesis, Thesis, Université du Québec, Sainte-Foy, 44 pp.
- Gorton, H.L., Vogelmann, T.C. (2003).** Ultraviolet Radiation and the Snow Alga *Chlamydomonas nivalis* (Bauer)Wille. *Photochemistry and Photobiology*, 77 (6), 608-615.
- Grinde, B. (1983).** Vertical distribution of the snow alga *Chlamydomonas nivalis* (Chlorophyta, Volvocales). *Polar Biology*, 2 (3), 159-162.
- Harris, E.H. (1989).** The *Chlamydomonas* sourcebook: a comprehensive Guide to Biology and Laboratory use. Academic Press, Inc, San Diego, California, 780 pp.
- Hoham, R.W. (1980).** Unicellular chlorophytes - snow algae, in *Phytoflagellates*, E.R. Cox, Editor. Elsevier North Holland, Inc.: New York. 61-84.
- Hoham, R.W. (1989).** Snow microorganisms and their interaction with the environment. in *Proc. 57th Annual Western Snow Conf. Ft. Collins, Colorado*. 31-35.
- Hoham, R.W., et al. (1998).** The effects of irradiance levels and spectral composition on mating strategies in the snow alga, *Chloromonas* sp.-D, from the Tughill Plateau, New York State. *Hydrological processes*, 12 (10-11), 1627-1639.
- Hoham, R.W., Duval, B. (2001).** Microbial ecology of snow and freshwater ice, in *Snow ecology*. Cambridge University Press: Cambridge. 168-228.
- Jones, H.G. (1991).** Snow chemistry and biological activity: a particular perspective on nutrient cycling., in *NATO ASI Series G: Ecol. Sci. Vol 28, Seasonal Snowpacks, Processes of Compositional Changes*, T.D. Davies, M. Tranter, and H.G. Jones, Editors. Springer-Verlag: Berlin.
- Jones, H.G. (1999).** The ecology of snow-covered systems: a brief overview of nutrient cycling and life in the cold. *Hydrological Processes*, 13 (14-15), 2135-2147.
- Kawecka, B., Drake, B.G. (1978).** Biology and Ecology of Snow Algae. *Acta Hydrobiologica*, 20, 111-116.
- Kol, E. (1968).** Kriobiologie. Biologie und Limnologie des Schnees und Eises., in *Die Binnengewässer*, H.J. Elster and W. Ohle, Editors. E. Schweizerbartsche Verlagbuchhandlung: Stuttgart. Vol 24.
- Leya, T., Müller, T., Ling, H., Fuhr, G. (2000).** Taxonomy and Biophysical Properties of Cryophilic Microalgae and Their Environmental Factors in Northwest Spitsbergen, Svalbard. in *57th Eastern Snow Conference*. Syracuse, New York, USA.

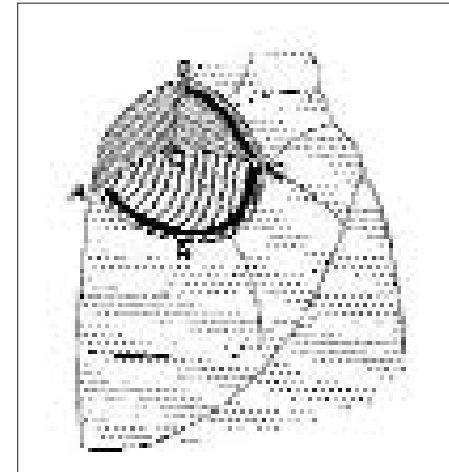
- Painter, T.H., Duval, B., Thomas, W.H., Mendez, M., Heintzelman, S., Dozier, J. (2001).** Detection and quantification of snow algae with an airborne imaging spectrometer. *Applied and environmental microbiology*, 67 (11), 5267-5272.
- Pielmeier, C. (2003). Textural and mechanical variability of mountain snowpacs. PhD Thesis, Thesis, University at Bern, Switzerland, 127 pp.
- Schwikowski, M., et al. (1997).** Intercomparison of snow sampling and analysis within the alpine-wide snowpack investigation (SNOSP). *Water, Air, and Soil Pollution*, 93 (1-4), 67-91.
- Tranter, M., Jones, G.H. (2001).** The Chemistry of Snow: Processes and Nutrient Cycling, in *Snow ecology*. Cambridge University Press: Cambridge. 127-167.
- Wakahama, G. (1968).** Infiltration of melt water into snow cover. III. Flowing down speed of melt water in a snow cover. *Low Temperature Sciences*, 26 (Series A), 77-86.
- Warren, S.G. (1982).** Optical properties of snow. *Review of geophysics and space physics*, 20 (1), 67-89.

### **C. Endolithic biofilms - prototrophic microbial communities inhabiting rocks**

***Bachofen Reinhard, Horath Thomas, Neu Thomas & Schanz Ferdinand***

Organisms growing on the surfaces of rocks as well as those penetrating the rock surface and accelerating its weathering have been known for a long time. A microscopic image of an oolithic rock with calcified microbial mat remains was published by Robert Hooke (1665). Also Goethe studied ooids and microbial mats (pisoliths), examples of hot mineral spring microbialites during his 13 visits of Karlsbad (1785 – 1823). To Diels (1914), investigating the algal vegetation of the dolomite cliffs in the Tschamin valley (South Tirol, It), we owe the first thorough investigation of endolithic organisms. By treating the rock surface with a hammer, he removed parts of the surface material and discovered a vividly green colored band of endolithic algae orientated parallel to the rock surface (Fig. 1). The depth of the zone was found between 4 and 8 mm in bare rocks, but 1 to 2 mm closer to the surface when the surface was overgrown by algae or lichens.

Since then endolithic cyanobacteria have been found in various habitats, especially in the Antarctic, in Israel (reviewed by Friedman and Galun, 1974, Bell 1993, VanThielen and Garbary, 2000, Pentecost and Whitton, 2000 and Wynn-Williams, 2000), in the Niagara cliffs (Gerrath et al. 1994, 1999) and recently also in the dolomite rocks in the Piora valley (Sigler et al. 2003).



*Figure 1: Drawing of Diels (1914), showing a piece of a rock from which a part has been removed by the stroke of a hammer. Fine dots = original surface of the rock, parallel lines = surface removed showing subsurface rock material (A-B-C-D form the border, E is in the middle), thick line = endolithic band of algae.*



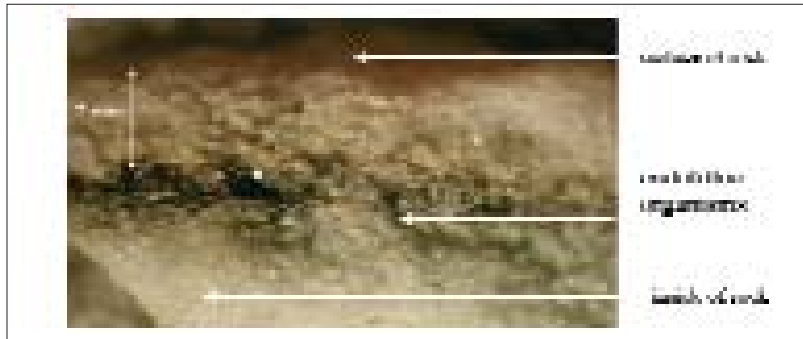


Figure 2: Macrophoto of an endolithic band from a piece of Piara dolomite (section perpendicular to the rock surface).

A transection through a band of endolithic organisms (Fig. 2) shows that the zone of green phototrophic organisms is situated some mm underneath the rock surface with a width of a few mm. As already observed by Diels (1914) the location of the organismic zone is depending on the light conditions, it is closer to the surface when the rocks have an epilithic vegetation or when the rock is from a light shielded site. This phenomenon can also be observed when material from sunny parts of rocks (Fig. 3, open squares) is compared with samples in constant shadow (Fig. 3, black circles). Statistical examination reveals that both the distance from the surface and the width of the band at the two sites differ significantly. This indicates that the light intensity is a main factor determining the location of the organisms.

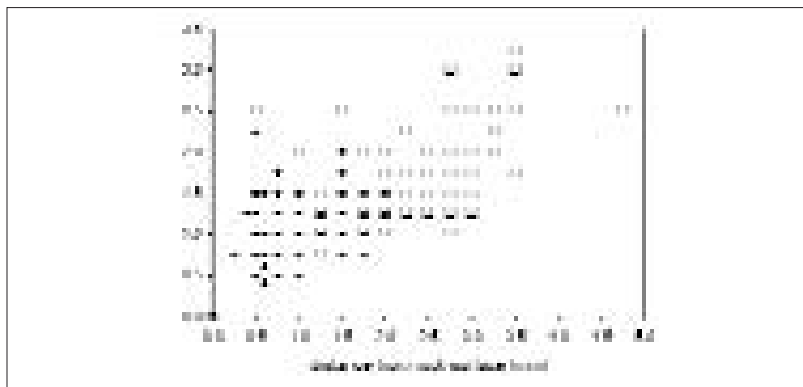


Figure 3: Measurements of width of the endolithic band and its distance from the rock surface in 160 samples. 80 samples originated from sites exposed to sunlight (open squares) and 80 samples from sites in a depression with a surface light intensity of 2 to 5 % of the rock surface (black circles). Dot plot of width of a band versus its distance from the surface in mm.

The light intensity at 3 mm depth ranges between 0.5 and 5 % of the surface intensity depending on the angle at which the light hits the rock surface (Horath et al., 2006). Such intensities are not different from other low light ecosystems, e.g. the bacterial layer at 12 m depth in Lake Cadagno.

Studies of endolithic microorganisms focused on those easily observable due to the presence of chlorophyll and phycobilins so far, e. g. on cyanobacteria and eukaryotic algae. Colorless heterotrophic organisms are hardly seen in rock by light microscopy, and electron microscopy is not suitable for taxonomic determinations.

The organisms cited in the literature are summarized in Table 1. The lists in column 1 to 4 are based on morphological features, obtained either by direct observation or after isolation and cultivation on plates. In contrast, data in column 5 and 6 come from two recent molecular studies. Biodiversity on morphological criteria seems to be much larger; obviously there is a substantial heterogeneity in cell form and size among the phototrophs present. The question remains whether the extreme and rapidly changing environment below the rock surface causes a high variability of morphotypes which is genetically not substantiated and should not be used for the definition of species.

Table 1: Cyanobacterial diversity in endolithic systems

Diels (1914)	Bell (1993)	Ferris and Lawson (1997)	Gerrath et al. (1995, 2000)	de la Torre (2003)	Sigler et al. (2003)
Light microscopy	Review, determinations based on microscopy	Light and electron microscopy	Microscopy and isolation on culture plates	Clone libraries, sequence analyses	Clone libraries, sequence analyses
Cliffs in Dolomite rocks	Semiarid regions and deserts	Limestone of Niagara escarpment	Limestone of Niagara escarpment	McMurdo Dry Valleys, Antarctica	Dolomite in Piara valley
Gloeocapsa punctata	Chroococcidiopsis sp.	Gloeocapsa sp.	Chlorogloea cf. microcystoides	Plectonema sp.	Leptolyngbya
Trentepolia aurea	Gloeocapsa sp.	Pleurocapsa sp.	Chroococcidiopsis sp.	Phormidium sp.	Chroococcidiopsis sp.
Aphanothece sp.	Gloeotheca sp.	Plectonema sp.	Eucapsis alpina		Nostoc sp.
Scytonema sp.	Synechococcus elongatus	Nodularia sp.	Gloeocapsa alpina		Scytonema hyalinum
	Anabaena sp.		Gloeotheca palea		Microcoleus sociatus
	Phormidium autumnale		Gloeotheca alpina		Symploca sp.
	Lyngbya sp.		Nostoc cf. calcicola		Anabaena cylindrica
			Nostoc sphaericum		
	Chlorococcum sphacosum		Phormidium sp.		Coscinodiscus sp.
	Chlorococcum arenosum		Plectonema cf. gracillimum		Stichococcus bacillaris
	Myrmecia sp.		Schizothrix cf. calcicola		Chlorella saccharophila
	Chlorella sp.		Synechocystis parvula		Chlorella sorokiniana
	Coccomyxa sp.		Synechocystis miniscula		
	Oocystis marssonii		Synechocystis cf. pevalekii		
	Borodinella polytrata				
	Chlorosarcinopsis aggregata		Chlorella sp.		
	Fasiculochloris boldii		Coccolobrya cf. mucosus		
	Friedmannia israelensis		Muriella terrestris		
	Tetracystis dissociata		Klebsormidium flaccidum		
	Tetracystis isobilateralis		Pseudendoconium printzii		
	Klebsormidium sterile		Pseudopleurococcus printzii		
	Stichococcus bacillaris		Scotiella tuberculata		
			Stichococcus bacillaris		
			Stichococcus chlorellioides		
			Stichococcus exiguus		
			Stichococcus minutus		
			Stichococcus minor		
			Trebouxia crenulata		
			Ulothrix subtilis		
			Chloridella neglecta		
			Ellipsoidion stichococcoides		
			Heterococcus pleurococcoides		

Two additional reasons suggest that biodiversity might be higher when based on morphological rather than on molecular studies:

(1) The results of light microscopical analyses are related to the experience of the observer. With a broad taxonomical knowledge and skills in microscopy more details are seen. An interpretation by an experienced scientist will also cover the considerable heterogeneity of morphological characteristics in nature resulting in better characterized species. With less experience the number of species described will differ from the actual situation.

(2) All taxonomic literature for cyanobacteria or algae is still based on morphological characteristics. Recent publications, in books or journals, reduce the species numbers compared to previous ones, and many species are combined. Thus, the number of species varies depending on the literature. However, there are still many doubtful species left, even in the most recent books. Nevertheless uncertain species should be excluded by modern taxonomists. As not everybody keeps to this principle, lists with a high number of species result from this proceeding.

Modern biodiversity studies with prokaryotes use molecular biological tools. Such studies often show that the genetic diversity of the 16S rDNA is much larger than the diversity obtained by culture techniques (Amann et al. 1995). In contrast to this, column 5 and 6 (Table 1) indicate a smaller number of species, and only few close relatives of the genera listed in column 1 to 4 (Table 1) are confirmed. It is not astonishing that in molecular microbial ecology, none of the sequences of cyanobacteria found fully fit with known sequences of cultured organisms (Ward et al. 1992). It may be that DNA extraction from rock material is incomplete and leads to a reduced number of species. However, as none of the cyanobacterial sequences from cultured organisms could be found, there might be a larger cyanobacterial diversity than we assume. Analyses of the photosynthetic pigments from endolithic cyanobacteria are technically demanding. Although the chlorophyll in the rock is well visible as a green band, it is difficult to enrich the organismic zone for extraction with organic solvent. Furthermore, the phycobilins as indicators of cyanobacteria will not be present in these absorption spectra. In order to demonstrate the *in vivo* pigment composition in the endolithic bands, we measured *in vivo* reflectance and converted it to their corresponding absorption spectra. Fig. 4 shows a set of absorption spectra from a cross-section through an organismic band in dolomite, calculated from reflection measurements. This technique has been described in Wiggli et al. (1996 and 1999). Besides the main absorption band of chlorophyll *a*, the broad absorption of the phycobilins and carotenoids is obvious. Moving from the surface of the rock towards the inside, the spectra not only show the quantitative distribution of the pigments, but also a qualitative change in their composition. The ratio of the accessory pigments (phycobilins) to chlorophyll increases with depth (compare in Fig. 4 the ratio of the absorption at 630 nm to 680 nm at 4 mm depth and 7 mm depth). This could be interpreted in several ways. It could be that on the outer side eukaryotic algae lacking phycobilins dominate and cyanobacteria are located more inwards, or that the increasing concentration of phycobilins with depth is due to chromatic adaptation of the cyanobacteria (Grossmann et al. 1994), or both phenomena may apply.

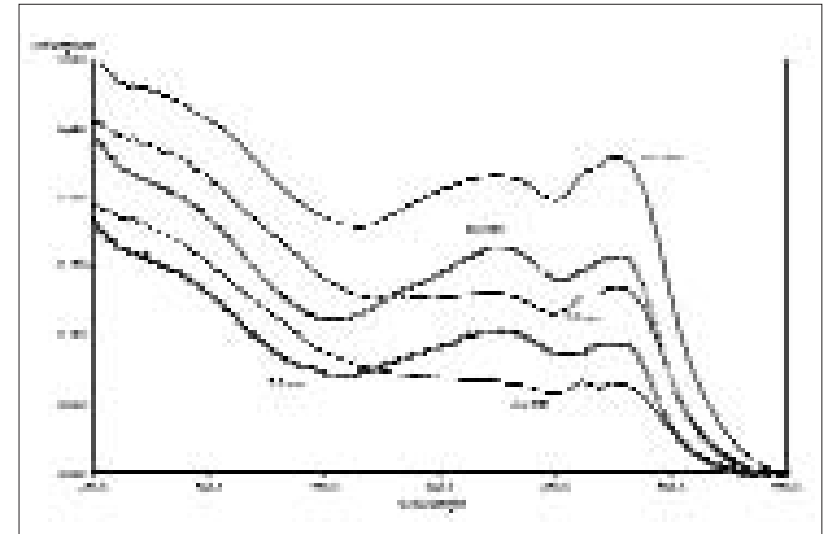


Figure 4: Absorption spectrum of organic extract of colored rock material and selected reflection spectra (converted to absorption for easier comparison, arbitrary units) from a cross section through a band (similar to Fig. 2). The numbers indicate the depth from the surface. Absorption calculated from reflection is normalized to 0 at 750 nm.

Confocal laser scanning microscopy (CLSM) allows to visualize phototrophic organisms by the autofluorescence of the photosynthetic pigments (Neu et al. 2003). Fluorescence emission of chlorophyll is in the far red (690/730 nm), while the phycobilin emission is in the orange-red (585 to 680 nm). Fig. 5 gives an overview of the outer part of a section through the rock perpendicular to the surface. As suggested from the reflection spectra, cells located closer to the surface show fluorescence of chlorophyll *a* (the far red emission is shown in blue), while cells which are more embedded in the rock give a double signal in the red and far red (shown as red and blue overlay in pink), indicating a mixture of phycobilin and chlorophyll fluorescence.

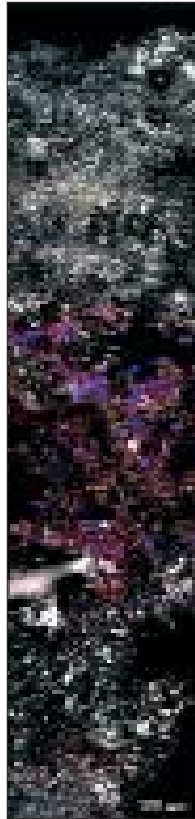


Figure 5: CSLM-image of the endolithic band, cross section from the rock surface to the inside part at low magnification.

In Fig. 6 a site is presented at higher magnification showing spherical cyanobacteria of different size as well as filamentous ones. Uneven fluorescence emission within single cells with purple spots in the center is probably a technical artifact due to the higher absorption cross section of phycobilins in the center of spherical bodies. As CLSM images are composed of a series of optical sections (for Fig. 6, 28 sections at a distance of 1  $\mu\text{m}$ ), sections at the top of the sample get more light than sections deeper inside the rock. Thus there is a gradient in light intensity of the actinic laser light perpendicular to the observation plane. This leads to fluorescence inhomogeneities between cells in different depths. Cells closer to the viewer show both phycobilin and chlorophyll fluorescence (both pigments oversaturated), while those deeper inside lack phycobilin fluorescence and appear blue (complete excitation transfer from phycobilin to chlorophyll).

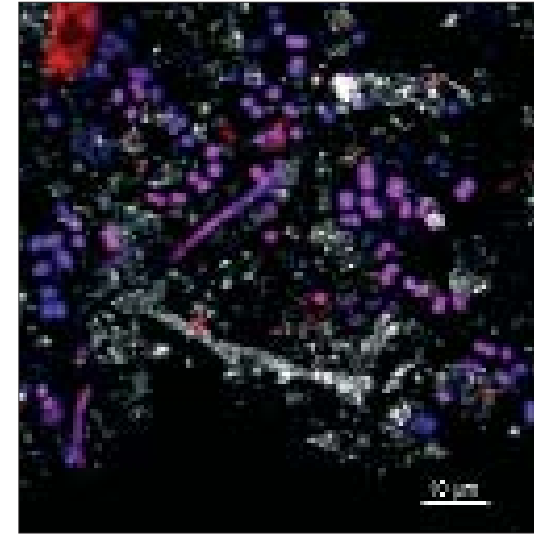


Figure 6: CSLM-image of the endolithic band, coccoid and filamentous cyanobacteria at higher magnification. Bar = 10  $\mu\text{m}$ .

Total DNA was extracted from colored rock bands and the 16S/18S ribosomal DNA was amplified. By denaturing gel-electrophoresis, cloning of the small subunit rDNA fragment and sequencing it, a considerable biodiversity within cyanobacteria (Sigler et al. 2003), algae, fungi and bacteria was demonstrated (Bachofen et al. 2001, Sigler et al. 2002). Genetic heterogeneity was found in chloroplast DNA from *Stichococcus bacillaris*, *Microcoleus* sp. and *Nostoc* sp. Most of these organisms are known for a high tolerance of dry conditions and are also common inhabitants of epilithic vegetation and desert soil crusts (Garcia-Pichel et al. 2001). Incubating a cyanobacterial community in liquid media specifically selects whether the organisms present will grow. The result is not representative for the endolithic cyanobacterial community. Interestingly both sequences from the cultured *Leptolyngbya* sp. and *Chlorella sorokiniana* chloroplast were not found in DNA extracted directly from the sample. This again points to the fact that the total microbial diversity in an environmental system cannot be caught completely neither by cultivation nor by molecular methods. Carbon assimilation within endolithic bands has been estimated to be in the range of 0.15 to 0.48 mg CO<sub>2</sub> chl a<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Bell and Sommerfeld, 1987; Matthes-Sears et al., 1997; Pentecost, 1992) and a large part of the assimilates becomes excreted. This could allow for a broad diversity among heterotrophic bacteria. Over 1100 clones of endolithic communities from the Antarctic were analyzed from which 46 were found highly similar ( $\geq 98\%$  sequence identity) to bacterial phylotypes (de la Torre et al., 2003). The analysis of the heterotrophic endolithic bacterial community in Piora dolomite is in progress (Horath et al., in preparation).

## Acknowledgement

We thank U. Kuhlicke for excellent technical assistance with CLSM.

## References

- Amann, R. I., Ludwig, W., Schleifer, K.H. (1995)** Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Revs.* 59, 143-169.
- Bachofen, R., Grüter, D., Horath, Th., Schanz, F., Neu, Th. (2001).** Endolithic microbial populations in dolomite rock. Abstract P04.005, 9<sup>th</sup> Int. Symp. Microb. Ecol. Amsterdam.
- Bell, R.A., Sommerfeld, M.R. (1987).** Algal biomass and primary production within a temperate zone sandstone. *Am. J. Bot.* 74, 294-297.
- Bell, R.A. (1993).** Cryptoendolithic algae of hot semiarid lands and deserts. *J. Phycol.* 29:133-139.
- De la Torre, J.R., Goebel, G.M., Friemann, E.I., Pace N.R. (2003).** Microbial diversity of cryptoendolithic communities from the McMurdo dry valleys, Antarctica. *Appl. Environm. Microbiol.* 69, 3858-3867.
- Diels, L. (1914).** Die Algen-Vegetation der Südtiroler Dolomitriffe. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 32. 502-526.
- Friedmann, E.I., Galun, M. (1974).** Desert algae, lichens and fungi. In *Desert Biology* (G. W. J. Brown, ed.), Acad. Press New York, pp. 165-212.
- García-Pichel, F., Lopez-Cortes, A. Nübel, U. (2001).** Phylogenetic and morphological diversity of cyanobacteria in soil desert crusts from the Colorado Plateau. *Appl. Environm. Microbiol.* 67, 1902-1910.
- Gerrath, J.F., Gerrath, J.A., Larson, D.W. (1995).** A preliminary account of endolithic algae of limestone cliffs of the Niagara Escarpment. *Can. J. Bot.* 73, 788-793.
- Gerrath, J.F., Gerrath, J.A., Matthes, U., Larson, D.W. (2000).** Endolithic algae and cyanobacteria from cliffs of the Niagara Escarpment, Ontario, Canada. *Can. J. Bot.* 78, 807-815.
- Grossmann, A.R., Schaefer, M.R., Chiang, G.G., Collier, J.L. (1994).** The responses of cyanobacteria to environmental conditions: light and nutrients. In: *The molecular biology of cyanobacteria* (D. A. Briant, ed.), Kluwer Acad. Press, Dordrecht, p.641-675.
- Hooke, R. (1665).** *Micrographia*. London.
- Horat, Th., Neu, Th., Bachofen, R. (2006).** Characterization of endolithic cyanobacteria in dolomite rocks in central Switzerland by reflection spectroscopy, scanning electron microscopy and laser scanning microscopy. *Microbial Ecology* 51, 353-364
- Matthes-Sears, U., Gerrath, J.A., Larson, D.W. (1997).** Abundance, biomass, and productivity of endolithic and epilithic lower plants on the temperate-zone cliffs of the Niagara Escarpment, Canada. *Int. J. Plant Sci.* 158, 451-460.
- Neu, Th.R., Woelfl, S., Lawrence, J.R. (2003).** 3-dimensional differentiation of photo-autotrophic biofilm constituents by multi-channel laser scanning microscopy (single-photon and two-photon excitation). *J. of Microbiol. Methods* (in press)
- Pentecost, A. (1992).** Growth and distribution of endolithic algae in some North Yorkshire streams (UK). *Brit. phycol. J.* 27, 145-151.
- Pentecost, A., Whitton, B.A. (2000).** Limestones. In: *The ecology of Cyanobacteria* (B. A. Whitton and M. Potts, eds.), Kluwer, Dordrecht (NL), pp. 257-279.
- Sigler, W.V., Horath, Th., Neu, Th., Bachofen, R. (2002).** Endolithic microbial population in dolomite rock. Abstract 207, *Int. Symp. Subsurface Microbiol. (ISSM02)* Copenhagen.
- Sigler, W.V., Bachofen, R., Zeyer, J. (2003).** Molecular characterization of endolithic cyanobacteria inhabiting exposed dolomite in central Switzerland. *Environm. Microbiol.* 5, 618-627.
- Van Thielen, N., Garbary, D.J. (2000).** Life in the rocks - endolithic algae. In: *Journey to diverse microbial worlds, adaptation to exotic environments* (J. Seckbach, ed.), Kluwer, Dordrecht, pp. 245-253.
- Ward, D.M., Weller, R., Bateson, M.M. (1990).** 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature* 345, 63-65.
- Wiggli, M., Ghosh, R. Bachofen, R. (1996).** Optical fiber-based *in situ* spectroscopy of pigmented single colonies. *Appl. Environm. Microbiol.* 62, 3339-3343.
- Wiggli, M., Smallcombe, A., Bachofen, R. (1999).** Reflectance spectroscopy and laser confocal microscopy as tools in an ecophysiological study of microbial mats in an alpine bog pond. *J. Microbiol. Methods* 34, 173-182.
- Wynn-Williams, D.D. (2000).** Cyanobacteria in deserts – Life at the limit ? In: *The Ecology of Cyanobacteria* (B. A. Whitton and M. Potts, eds.), Kluwer, Dordrecht (NL), pp. 341-366.

## **D. Biologie de l'extrême en milieu marin: la méio-faune benthique**

***Bodiou Jean-Yves & Boucher Guy***

### **1. Généralités**

Les milieux aquatiques, marins ou dulçaquicoles, sont peuplés d'organismes très diversifiés appartenant à de nombreux groupes zoologiques que l'on peut subdiviser en deux catégories :

- les animaux qui vivent en pleine eau, sans relations avec le fond : le plancton majoritairement composé d'organismes de petite taille dont les déplacements sont gérés par les mouvements des masses d'eau et le necton qui est capable, grâce à sa mobilité propre, de se déplacer indépendamment des courants. Ces deux compartiments constituent le Pélagos, terme très souvent rencontré dans le milieu marin, mais valable aussi pour les eaux douces.
- les animaux qui vivent en relation avec le fond (pour s'implanter, se déplacer, se camoufler, se protéger, se nourrir, se reproduire...). Ce sont les représentants de la faune dite benthique, également appelée Benthos.

Il est d'usage d'introduire une hiérarchie dimensionnelle qui subdivise les peuplements en contingents d'espèces dont les tailles sont déterminées par les vides de maille d'une colonne de tamis qui retient les animaux étudiés.

On distingue ainsi:

- les individus  $> 2\text{mm}$ , c'est-à-dire retenus par le tamis de  $2\text{mm}$ , constituent la macrofaune benthique ou macrobenthos.
- les individus compris entre  $2\text{mm}$  et  $0,1\text{mm}$ , c'est-à-dire traversant le tamis de  $2\text{mm}$  et retenus par celui de  $0,1\text{mm}$ , constituent la méiofaune benthique ou méiobenthos.
- les individus compris entre  $0,1$  et  $0,01\text{mm}$ , constituent la microfaune benthique ou microbenthos et ainsi de suite jusqu'aux bactéries (hypobenthos, picobenthos...).

Ces dimensions ne sont pas arbitraires, bien qu'elles aient été choisies empiriquement vers le milieu du XXe siècle en fonction des observations faites lors des travaux de recherche. Elles ont été confirmées à posteriori par des études effectuées dans des sites de référence qui ont montré que les tailles des métazoaires benthiques se répartissent selon une courbe bimodale (Figure 1) qui correspond aux définitions du macro- et du méiobenthos (Schwinghammer, 1981 ; Warwick *et al.*, 1986).

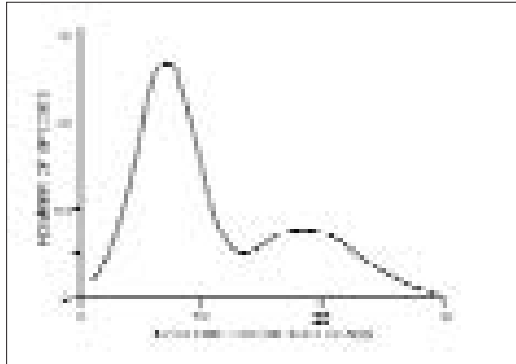


Figure 1 : Spectre de taille du benthos : deux contingents faunistiques sont mis en évidence par la taille (méio-benthos et macro-benthos) séparés par une discontinuité.

Parmi ces contingents, le méio-benthos, constitué de métazoaires de petite taille souvent à peine visibles à l'œil nu, occupe une situation particulière liée aux très fortes densités de ses représentants et aux adaptations morphologiques et éthologiques imposées par les contraintes de leurs relations avec l'environnement, beaucoup plus importantes que pour la macrofaune (Figure 2).



Figure 2 : Nématodes et copépodes Harpacticoides, les deux groupes dominants du méio-benthos.

Les premiers représentants de la méiofaune ont été découverts et décrits au cours du XIXe siècle, mais la reconnaissance du méio-benthos en tant que groupe écologique est beaucoup plus récente. Remane (1933) introduit le premier le concept de communauté pour définir la faune adaptée aux conditions très particulières du milieu interstitiel. Mare (1942) définit un assemblage de microinvertébrés benthiques mobiles par le terme de méio-benthos séparé du macro- et du micro-benthos par des critères de taille.

L'originalité de ce méio-benthos, après une phase de scepticisme vers les années 60, n'est plus à démontrer, tant au plan de la diversité et de la richesse spécifique qu'au niveau de la colonisation de tous les types de substrats rencontrés dans le milieu aquatique. Les méio-benthos sont particulièrement exposés, de par leur petite taille, aux « forces sélectives spéciales » du milieu (Svedmark, 1964). Les groupes zoologiques représentés présentent un foisonnement d'espèces dont une des explications est le grand nombre, au cours de leur développement, de stades larvaires sur lesquels les pressions physiques et biologiques du milieu ont pu s'exercer pendant l'évolution. De plus, leur petite taille initiale leur a permis d'éviter la miniaturisation accompagnée souvent de pertes d'organes nécessaires aux représentants de taxons plus volumineux pour s'adapter aux microenvironnements des fonds aquatiques : les représentants méio-benthiques des groupes présents dans la macrofaune sont généralement atypiques par rapport aux autres espèces. Ce point est très important car si on peut trouver dans le méio-benthos des représentants de tous les groupes zoologiques marins ou dulçaquicoles, la très grande majorité de ses populations est composée de groupes particuliers de petits métazoaires qui lui sont strictement inféodés.

## 2. Principaux taxons de la méiofaune benthique

Certains auteurs considèrent que le méio-benthos est exclusivement constitué de Métazoaires, d'autres y incluent les Protistes. En tenant compte de l'avis le plus large (Higgins & Thiel, 1988 ; Giere, 1993), les principaux taxons recensés sont constitués de protistes (Foraminifères et Ciliés), de Cnidaires, de Plathemintes (Turbellariés), de Gnathostomulides, Némertes, Nématodes, Gastrotriches, Kinorhynques, Priapulides, Loricifères, Rotifères, Sipunculides, Mollusques, Annélides, Tardigrades, Crustacés divers dont certains très primitifs (Mystacocarides), d'Acariens et de Pycnogonides.

Les deux groupes dominants sont représentés par les nématodes libres (50 à 99%) et les copépodes Harpacticoides (quelques % à 50%). Les autres groupes sont souvent qualifiés de « groupes mineurs », connus des seuls spécialistes, pourtant d'un intérêt fondamental pour la compréhension de l'évolution. Plusieurs classes d'organismes méio-benthiques appartiennent au groupe des métazoaires primitifs des Ecdyzoaires (présence de mues et stades larvaires, cuticule avec chitine,...) : Nématodes, Loricifères, Gastrotriches, Kinorhynques proches des Arthropodes mais aussi aux Lophotrochozoaires (Gnathostomulides, Turbellariés, Oligochètes, ...).

### 3. Spécificités du méiobenthos

Si le méiobenthos constitue une entité dimensionnelle, il représente aussi une entité fonctionnelle originale par rapport au macrobenthos.

Le méiobenthos est ubiquiste depuis le fond des lacs de haute altitude jusque dans les fosses les plus profondes de l'océan mondial. Sa composition faunistique varie en fonction de la nature des fonds et des conditions physico-chimiques du milieu. Le foisonnement évolutif et la diversité des stratégies adaptatives permettent, quel que soit le site prospecté, le développement d'une forte diversité d'espèces spécialisées adaptées au biotope alors que la macrofaune est absente de conditions trop extrêmes (Figure 3).

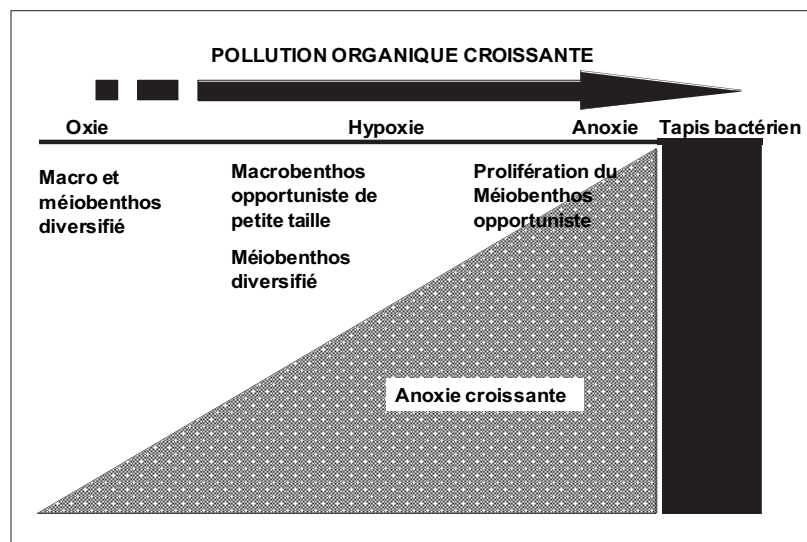


Figure 3 : Le méiobenthos est mieux adapté aux conditions extrêmes de pollution organique et d'anoxie que le macrobenthos.

Les organismes du méiobenthos sont d'excellents indicateurs écologiques pour 3 raisons principales :

- Ils sont très abondants ; les densités de populations chez deux groupes les plus représentés (Nématodes et Copépodes) peuvent atteindre et dépasser  $10^7$  individus  $m^{-2}$ . Cette abondance permet des études écologiques basées sur des données particulièrement fiables.
- Ils sont de petite taille et vivent de ce fait en contact étroit avec le substrat. Leur morphologie permet de caractériser le type de fond sur lequel ils ont été prélevés.
- Ils sont holobenthiques : du fait de l'absence de phase larvaire planctonique au cours du développement (progénie), la totalité du cycle de vie se fait sur place.

Il en résulte une répartition beaucoup plus constante des individus qui ne peuvent coloniser d'autres sites par l'intermédiaire des courants. L'étude de la présence/absence des individus est beaucoup plus significative en cas d'étude d'un milieu sur une longue période. La colonisation de nouveaux sites, quand elle existe, se fait par des transferts d'adultes.

Les organismes du méiobenthos jouent un rôle fondamental au niveau de l'interface eau-sédiment. Ils recyclent la production primaire benthique du microphytobenthos (Diatomées) ainsi que la matière organique particulaire déposée sur le fond. Ils consomment et stimulent à la fois la croissance bactérienne et transforment ainsi de la matière organique d'origine végétale peu assimilable en matière organique animale très nourrissante (présence d'acides gras polyinsaturés indispensables pour le développement des juvéniles de poissons).

De part sa productivité élevée ( $10 < P/B < 40$ ), le méiobenthos met à la disposition des prédateurs de la macrofaune des proies nombreuses et de bonne qualité nutritive. Il constitue un créneau nutritif bref mais indispensable pour la survie des juvéniles de nombreuses espèces benthiques, en particulier pour les poissons.

### 4. Les spécificités du milieu sédimentaire

Inféodé au milieu sédimentaire, le méiobenthos doit s'adapter à des conditions extrêmes. Selon la distribution granulométrique des grains constitutifs, les espaces disponibles pour la colonisation de la faune sont plus ou moins limités, de même que la perméabilité du substrat à la pénétration en eau et substances oxydées. Des composés toxiques s'y accumulent, que ce soit par le biais des cycles géochimiques naturels ou par apport de polluant sédimentés de la colonne d'eau.

#### a. La vie interstitielle

La stratification verticale de la répartition du méiobenthos par rapport à l'interface eau-sédiment permet de distinguer l'épifaune établie à la surface du substrat et l'endofaune colonisant les couches plus profondes du sédiment.

Un contingent particulier, la faune interstitielle, présente un exemple d'adaptation très pointue des organismes aux conditions du milieu. Elle vit dans le réseau d'interstices à l'intérieur du sédiment sans déplacer ses constituants dès qu'un espace interstitiel suffisant, non colmaté par des particules fines, est disponible. Elle est également nommée mésofaune ou mésopsammon car elle se cantonne exclusivement aux milieux sableux grossiers généralement présents au voisinage de la frange littorale où l'hydrodynamisme et les courants débarrassent le sédiment de ses particules fines. Ce mode de vie induit des morphologies tout à fait particulières. En plus d'une taille toujours très réduite, apparaît une convergence morphologique vermiforme des taxa, quel que soit le groupe zoologique (figure 4). On relève aussi une dépigmentation très poussée, la disparition des organes de la vision, la présence de statocystes chez

de nombreuses espèces, des soies sensorielles et divers types d'organes adhésifs. Au niveau biologique, la situation très confinée de la mésofaune entraîne la généralisation des stratégies reproductives de type K avec une réduction du nombre d'œufs pouvant descendre jusqu'à l'unité.

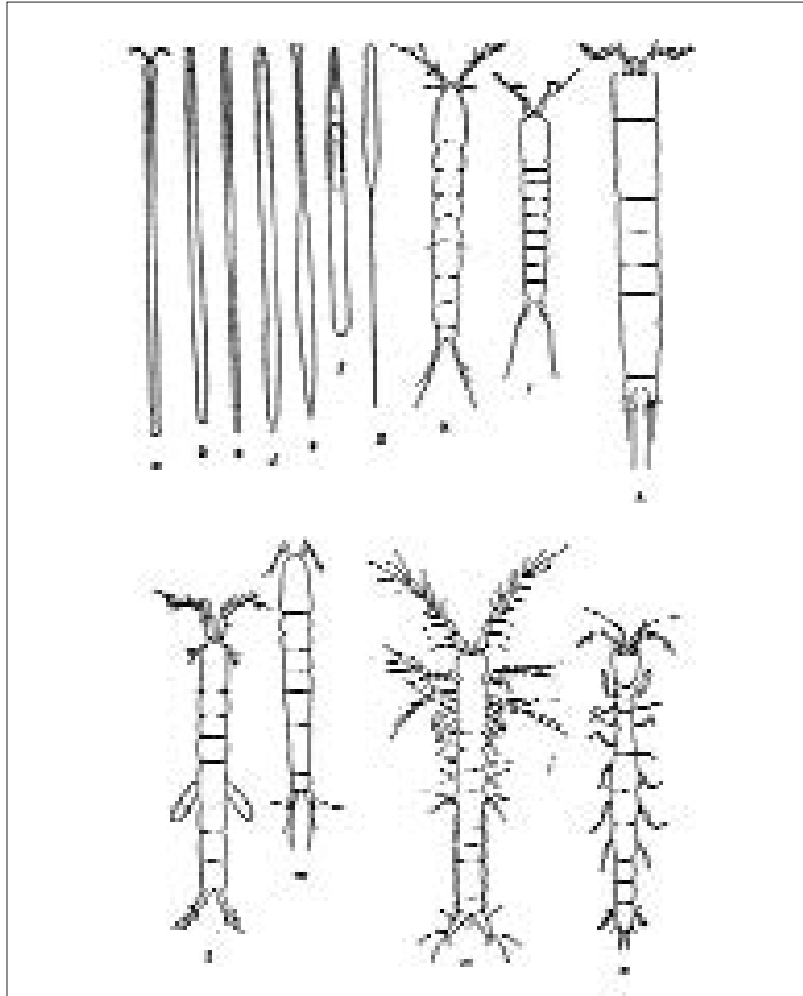


Figure 4 : Convergence de forme chez les organismes méiobenthiques : a – Archiannélides ; b-f – Turbellariés ; C- Oligochaetes ; d-e- Ciliés ; g- Gastrotriches ; k-i- Copépodes harpacticoides ; n- Mystacocarides ; O- Isopodes.

Le confinement du mésopsammon à son biotope lui permet d'être utilisé comme indicateur écologique à l'échelle des temps géologiques car il a dû s'adapter au déplacement des rivages lors des grandes variations du niveau de la mer. Ainsi la faune interstitielle littorale se divise en 2 contingents pendant les périodes de régression (Boutin & Coineau, 1990):

- la faune qui ne migre pas et qui va s'adapter aux conditions de vie continentales pendant la période de retrait de la mer qui peut survenir sur des dizaines de milliers d'années. Cette faune qui migre verticalement vers les nappes phréatiques est relativement proche de la faune d'origine en raisons des propriétés conservatrices du milieu interstitiel.
- la faune qui suit la ligne de littoral pendant le retrait de la mer et qui va subir un beaucoup plus grand nombre de contraintes du milieu au cours de la période de régression. Ces contraintes agissent sur la spéciation et les formes restées littorales seront finalement beaucoup plus éloignées des espèces littorales d'origine malgré leur maintenance dans le même biotope.

### b. Les milieux réduits et l'adaptation du thiobios

Dès que le sédiment se colmate par accumulation de particules fines, l'interface eau-sédiment présente les plus forts gradients physicochimiques de la planète. Les études récentes par microélectrodes indiquent la disparition de l'oxygène à quelques millimètres de l'interface dans la majorité des sédiments. Des composés réduits toxiques apparaissent alors. Tout particulièrement, l'accumulation de matière organique provenant de la colonne d'eau enrichit l'eau interstitielle en sulfures par réduction bactérienne des sulfates. L'exacerbation du processus par activité géothermique peut conduire à l'expulsion dans la colonne d'eau de gaz riches en méthane et ammonium. Les organismes susceptibles de coloniser ces milieux ont été considérés comme les représentants du thiobios à l'origine des métazoaires qui sont apparus dans des milieux dépourvus d'oxygène de la Pangée originelle. La notion de thiobios (Boaden & Platt, 1971) compartiment faunistique adapté à la vie en anoxie dans un milieu qualifié de « sulfid system » (Fenchel & Riedl, 1970), a été proposée pour qualifier des organismes susceptibles de développer des mécanismes de détoxification des sulfures. Cette conception fût contestée par Reise & Ax (1979) notamment du fait de l'hétérogénéité du milieu susceptible de comporter des niches oxydées (bioturbation) ou réduites, de la mobilité des organismes susceptibles de faire des incursions temporaires dans les milieux réduits ou d'utiliser les galeries oxydées résultant de la bioturbation.



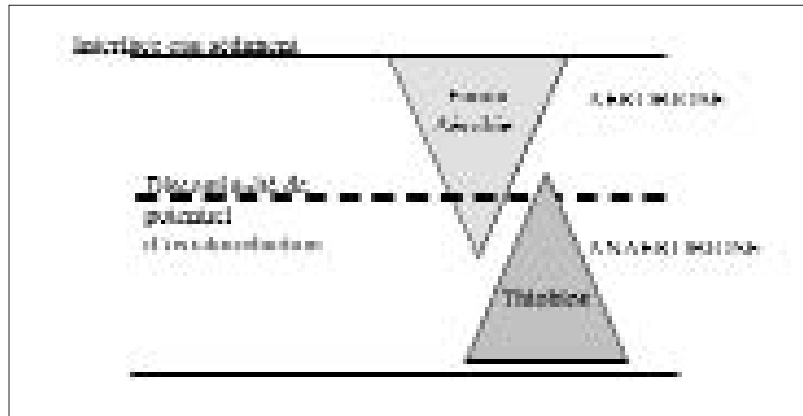


Figure 5 : Concept du thiobios, compartiment faunistique adapté aux milieux réduits.

## 5. Des organismes ancestraux ou ayant conquis secondairement les milieux extrêmes?

Certains groupes du méiobenthos ont été considérés comme l'origine de l'évolution des métazoaires (Boaden, 1975). Tous les organismes thiobiotiques peuvent utiliser l'oxygène lorsqu'il est disponible mais le taux d'utilisation peut être considérablement réduit en comparaison de celui des organismes aérobies (Fox & Powell, 1987 ; Schiemer et al., 1990). Les organismes typiques du thiobios sont constitués de Ciliés (Fenchel & Finlay, 1991), de Turbellariés (Powell 1989), de Gnathostomulides (Powell et al., 1983), de Gastrotriches (Boaden, 1975), d'Oligochètes (Giere, 1981) et de Nématodes qui sont certainement le groupe le plus abondant dans les milieux réduits. La majorité des ordres et familles y sont représentés avec une pénétration plus ou moins marquée dans les couches profondes réduites du sédiment.

Plusieurs genres montrent des accumulations de granules de sulfures dans les cellules intestinales (*Daptonema*, *Siphonolaimus*, *Sphaerolaimus*, *Sabatieria*, *Terschellingia*) ou des inclusions de cristaux dans les muscles (*Tobrillus*, *Sabatieria*). Il est souvent affirmé dans la littérature que ces structures globulaires sont issues d'un mécanisme de détoxification des sulfures. Thiermann et al. (1994) indiquent dans les cellules épidermales de *Oncholaimus campylocercus*, et en l'absence apparente de bactéries symbiotiques, la présence de sulfures sous forme d'agrégations huileuses provenant du métabolisme du nématode. Ces accumulations sont connues chez de nombreuses bactéries du cycle du soufre sous forme de polysulfates linéaires à longues chaînes.

Il apparaît cependant de plus en plus clairement que cette adaptation à des milieux anoxiques repose en grande partie sur des associations bactériennes ou des symbioses qui fournissent l'énergie nécessaire à la vie en anaérobiose. Les nématodes, vivent en étroite relation avec la microflore. Par les sécrétions de mucus et polysaccharides

issues de leurs glandes caudales et pharyngiennes, ils produisent un substrat favorable au développement de populations bactériennes dont ils exploitent la production pour leur alimentation. Cette caractéristique a été formulée dans la théorie de la « *mucus trap hypothesis* » (Rieman & Schrage, 1978). Le nématode stimule la croissance de sa nourriture (concept du « *gardening* ») dans les pistes muqueuses qu'il crée en se déplaçant entre les particules sédimentaires.

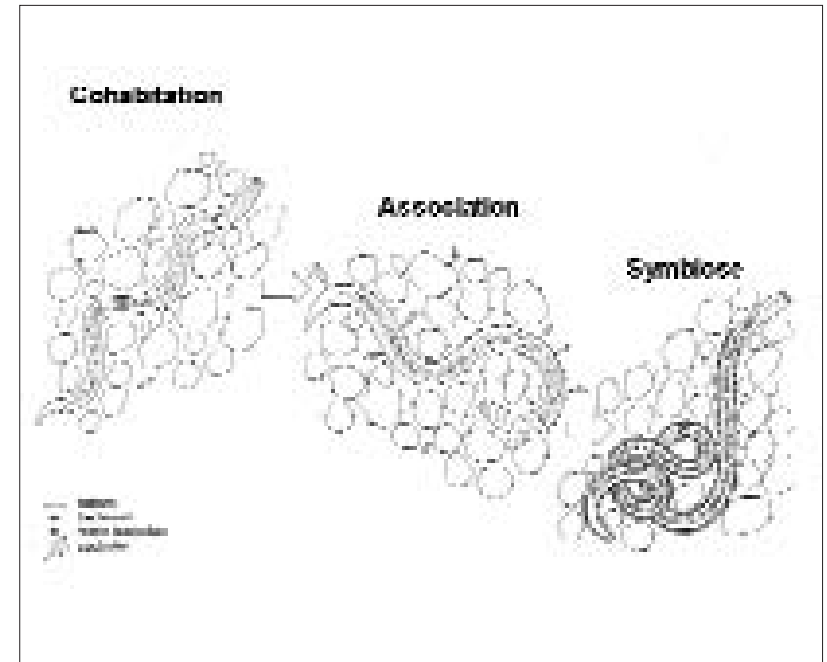


Figure 6 : Les différents stades de l'association des nématodes avec la microflore.

Certaines familles, les Desmodoridae notamment, ont développés des associations encore plus poussées avec les bactéries sous forme d'ectosymbioses (Ott et al., 1991). Leur cuticule porte un feutrage bactérien, des ciliés Suctoriens ou même des diatomées. Les représentants de la sous-famille des Stilbonematinae sont connus pour héberger sur leur cuticule un dense feutrage de bactéries sulfatoréductrices dont l'hôte se nourrit ainsi que l'indiquent les rapports isotopiques. Cette association leur permet de coloniser les couches anoxiques profondes du sédiment (Polz et al., 1992, Schiemer et al., 1990). Les nématodes dépourvus de ce type d'association présentent une répartition limitée aux couches superficielles oxiques ou hypoxiques du sédiment (Figure 7). Le séquençage de l'ARN 16S et des hybridations *in situ* chez *Laxus sp.* montrent la présence d'une seule bactérie proche du genre *Thiomicropsira*, c'est-à-dire chemoautotrophe oxydant les sulfures (Polz et al., 1994).

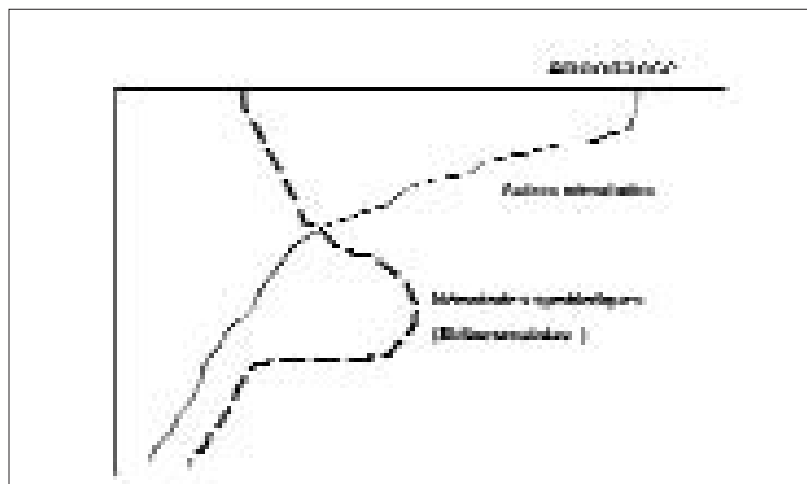


Figure 7 : Répartition verticale des nématodes présentant des Ectosymbioses par rapport aux autres nématodes.

Enfin, certains nématodes présentent des modifications anatomiques majeures liées à la symbiose dont le paroxysme est illustré chez les genres *Astomonema* et *Parastomonema*. Ceux-ci développent une stratégie proche de celle des Vestimentifères des sources hydrothermales. Cette adaptation apparaît ici dans les sources froides du talus continental mais aussi dans certains sédiments littoraux.

Ces genres, caractéristiques des milieux riches en méthane ou sulfures ont perdu l'orifice buccal et l'œsophage au profit d'une cavité abritant des bactéries symbiotiques. Un intestin est maintenu mais chez *A. southwardorum* (Giere et al., 1995) les bactéries sont extracellulaires alors que chez *A. jenneri*, elles sont intracellulaires (Ott et al. 1982). L'évolution progressive de l'association bactéries/nématodes vers des endosymbioses cellulaires est probablement beaucoup plus courante que supposée et non limitée aux seuls nématodes.

## Conclusion

Une grande partie des organismes méiobenthiques présentent donc des adaptations majeures à la vie en milieu extrême, que soit sous les contraintes d'un milieu interstitiel oxydé (notamment dans les milieux hyporhéiques de l'interface continent-océan) ou de celles de la colonne sédimentaire soumise à l'anoxie. Des mécanismes de détoxification tissulaires existent chez de nombreux genres de nématodes, quelque fois en l'absence de bactéries associées. La symbiose apparaît cependant comme un processus majeur ayant favorisé cette adaptation. Il est curieux que la littérature récente n'aborde que trop rarement cet aspect de la biologie de la méiofaune.

Le développement des techniques moléculaires d'identification et de localisation des bactéries ouvre maintenant des perspectives nouvelles qui devraient stimuler les recherches sur les divers groupes de la méiofaune.

## Références

- Boaden P.J.S. (1975).** Anaerobiosis, meiofauna and early metazoan evolution. Zool. Scr. 4: 21-24.
- Boaden P.J.S., Platt H. (1971).** Daily migration patterns in an intertidal meiobenthic community. Thalassia Jugosl 7: 1-12.
- Boutin C., Coineau N. (1990).** « Regression Model », Modèle biphasé d'évolution et origine des micro-organismes stygobies interstitiels continentaux. Rev. Micropal. 33: 303-322.
- Fenchel T., Finlay B.J. (1991).** The biology of free-living anaerobic ciliates. Eur. J. Protistol 26: 201-215
- Fenchel T., Riedl R.J. (1970).** The sulphide system: a new biotic community underneath the oxidized layer of marine sand bottoms. Mar Biol. 7: 255-268.
- Fox C.A., Powell E.N. (1987).** The effect of oxygen and sulphide on CO<sub>2</sub> production by three acoel turbellarians. Are thiobiotic meiofauna aerobic? Comp. Biochem. Physiol. 86A: 509-514.
- Giere O. (1981).** The gutless marine Oligochaete *Phalodrilus leukodermatus*. Structural studies on an aberrant tubicid associated with bacteria. Mar. Ecol. Prog. Ser. 5: 353-357.
- Giere O. (1993).** Meiobenthology. The microscopic fauna in aquatic sediments. Springer-Verlag, 328 pp.
- Giere O., Windoffer R., Southward E. (1995).** The bacterial endosymbiosis of the gutless nematodes *Astomonema southwardorum*: ultrastructural aspects. J. mar. biol. Ass. 75: 153-164.
- Higgins R.P., Thiel H. (eds) (1988).** Introduction to the study of meiofauna. Smithsonian Inst Press, Washington, DC, 488 pp.
- Mare M.F. (1942).** A study of a marine benthic community with special reference to the micro-organisms. J. mar. Biol. Ass. UK 25 : 517-554.
- Ott J., Rieger G., Rieger R., Enderes F. (1982).** New mouthless interstitial worms from the sulfide system. Symbiosis with Prokaryotes. Mar.Ecol.PSN, 3: 313-332.
- Ott J., Novak R., Schiemer F., Hentschel U., Nebelsick M., Polz M. (1991).** Tackling the sulfide gradient: a novel strategy involving marine nematodes and chemoautotrophic ectosymbionts. PNZI Mar Ecol. 12: 261-279.
- Polz M.F., Felbeck H., Novak R., Nebelsick M. Ott J.A. (1992).** Chemoautotrophic, Sulfur-Oxidizing Symbiotic Bacteria on Marine Nematodes: Morphological and Biochemical Characterization. Microb. Ecol. 24: 313-329.
- Polz M., Distel D.L., Zarda B., Amann R., Felbeck H., Ott J., Cavanaugh C.M. (1994).** Phylogenetic analysis of a highly specific association between ectosymbiotic, sulphur-oxidizing bacteria and a marine nematode. Appl. Environ. Microbiol., 4461-4467.

**Powell E.N. (1989).** Oxygen, sulphide and diffusion: why thiobiotic meiofauna must be sulphide-insensitive first-order respirers? *J. Mar. Res.* 47: 887-932.

**Powell E.N., Bright T.J., Woods A., Gittings S. (1983).** Meiofauna and the thiobios in the East Flower garden brine seep. *Mar. Biol.* 73: 269-283.

**Reise K., Ax P. (1979).** A meiofaunal thiobios limited to the anaerobic sulfide system of marine sand does not exist. *Mar. Biol.* 54: 225-237.

**Remane A. (1933).** Verteilung und Organisation der benthonischen Mikrofauna der Kieler Bucht. *Abt Kiel, NF 21* : 161-221.

**Riemann F., Schrage M. (1978).** The mucus-trap hypothesis on feeding of aquatic nematodes and implications for biodegradation and sediment texture. *Oecologia (Berl)* 34: 75-88.

**Schiemer F., Novak R. Ott J. (1990).** Metabolic studies on thiobiotic freelifing nematodes and their symbiotic microorganisms. *Mar. Biol.* 106: 129-137.

**Schwinghamer P. (1983).** Generating ecological hypotheses from biomass spectra using causal analysis : a benthic example. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 13: 151-166.

**Swedmark B. (1964).** The interstitial fauna of marine sand. *Biol. Rev.* 39: 1-42.

**Thiermann F., Windoffer R., Giere O. (1994).** Selected meiofaunal around shallow water hydrothermal vents off Milos (Greece): ecological and ultrastructural aspects. *Vie Milieu*, 44 (3/4) : 215-226.

**Warwick R.M., Collins N.R., Gee J.M., George C.L. (1986).** Species size distributions of benthic and pelagic metazoan: evidence for interactions? *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 34:63-68.

## **E. Adaption de certains organismes récifaux en milieu confiné**

**Joannot Pascale**

Un milieu confiné tel un aquarium constitue un milieu extrême pour des organismes marins vivant normalement en pleine eau. Cet exposé est le fruit d'une observation de plus de quinze ans des organismes récifaux en aquarium en circuit d'eau de mer ouvert et en lumière naturelle. Qu'est-ce que l'adaptation, l'adaptabilité? C'est l'ajustement d'une espèce aux conditions du milieu.

Une adaptation spécifique est très souvent le résultat d'une évolution phylogénique. Dans ce cas, c'est l'espèce qui s'est accordée avec l'environnement. C'est la sélection naturelle qui est le « précepteur » et l'expérience acquise est conservée dans le génome de l'espèce, et déchiffrée pendant l'ontogénèse.

Il ne s'agit pas ici d'aborder des observations de comportements spécifiques sur plusieurs générations d'organismes, mais de donner des exemples d'organismes marins vivant en milieu confiné dans des conditions d'eau et de lumière naturelles.

### **\* Qu'est-ce qu'un aquarium?**

Une prison ou un diverticule de lagon dans le cas d'aquarium récifal, un lieu de villégiature pour organismes marins?

Quel outil plus adapté à la sensibilisation et à la prise de conscience de l'importance des écosystèmes coralliens dans l'équilibre écologique global de la planète, qu'un aquarium public?

Il s'agit au départ d'un minimum de quatre parois de matériaux divers : verre, méthacrylate, verre et bois résiné, verre et béton résiné ou encore verre et béton marin brut ... Dans ce bocal de plus ou moins grande contenance on y verse de l'eau : naturelle pompée dans la mer ou de l'eau du robinet à laquelle on ajoute les ingrédients nécessaires pour reconstituer une eau la plus proche possible de celle du milieu naturel d'où proviennent les organismes que l'on veut présenter en aquarium ou mettre en élevage.

L'eau de mer est constituée d'une multitude de composants et les mesures de certains paramètres et de certains éléments dans l'eau de mer sont nécessaires ; une augmentation ou une diminution de la teneur de certains d'entre eux peut être fatale à l'équilibre du milieu et donc aux organismes. Les tableaux ci-après en donnent un aperçu.

Composants de l'eau de mer	Actions
Principaux composants : Chlore / Sodium / Magnésium / Calcium / Strontium / Potassium / Soufre / Carbone / Brome / Bore	
Gaz : Hydrogène / Oxygène / Anhydride carbonique / Argon / Krypton / Néon / Xénon	
Chlorure de sodium	Le sel dissous le plus représenté dans l'eau de mer ; on définit la salinité en fonction de sa concentration. La norme de définition est exprimée en grammes par litre, la moyenne étant de 35 g/l.
Autres composants : Argent / Aluminium / Antimoine / Argon / Arsenic / Barium / Béryllium / Bismuth / Cadmium / Carbonates / Cérium / Cobalt / Cuivre / Chrome / Césium / Crypton / Erbium / Etain / Dysprosium / Europium / Fer / Fluor / Gadolinium / Gallium / Germanium / Hélium / Hafnium Holmium / Indium / Indium / Iode / Lanthane / Lithium / Lutetium / Manganèse / Mercure / Molybdène / Néodyme / Niobium / Nickel / Or / Phosphore / Platine / Plomb / Praseodyme / Protactinium / Radium / Rubidium / Radon / Radium / Samarium / Scandium / Sélénium / Silicium / Tantale / Terbium / Thallium / Thulium / Titane / Thorium / Tungstène / Uranium / Vanadium / Ytterbium / Yttrium / Zinc / Zirconium	
cobalt, calcium, strontium	rôle structurel
brome	rôle immunitaire
chlore, fer	rôle dans la photosynthèse
potassium	agit sur la régulation osmotique,
manganèse, le plomb et le zinc	Agit sur la structure et la biologie des coraux et aussi sur la photosynthèse
iode	Métabolisme
sodium	activation enzymatique
soufre, le molybdène	réduction des nitrates et sur la fixation de l'azote atmosphérique
magnésium	l'activation enzymatique et la pigmentation photosynthétique
Éléments en quantité infinitésimales : Actinium / Astate / Iridium / Francium / Osmium / Platine / Palladium / Rhodium / Ruthénium / Technétium	(S.Fournier et N.Leclercq)

Paramètres à mesurer	Définition
Ph	potentiel hydrogène : élément important en aquariologie marine. La valeur du Ph conditionne la santé des poissons, des invertébrés et des coraux. Le Ph idéal en eau de mer est situé entre 8.2 et 8.4
TH	TH (titre hydrotimétrique) ou le GH (valeur allemande) représente le taux des ions calcium et de magnésium. Cette valeur est exprimée en degré. Le th français correspond à 10 mg CaCO3 par litre. 1 th = 0.56 gh allemand
TAC	tac (titre alcalimétrique complet) représente la concentration en bicarbonates et en carbonates. Cette valeur est aussi exprimée en degré. Le tac se nomme " la dureté carbonatée " : KH en allemand. Le KH en eau de mer doit être entre 7 et 12 degrés. 1 degré allemand = 1.78 degrés français
rh	appelé potentiel redox ou potentiel d'oxydoréduction. C'est la mesure de l'action oxydante de l'eau. Une oxydation trop puissante ou trop basse peut être la cause et la source de nombreux problèmes. (taux d'oxygène réduit, brûlures des branchies, asphyxies des poissons, productions de gaz néfastes, etc..)
NITRITES	dangereux pour les occupants de l'aquarium. Un taux important survient en général lorsque l'eau est surchargée en matières organiques, et que les bactéries ne sont pas suffisantes pour les transformer en nitrates. Nécessité de réensemencer le bac afin de faire baisser le taux de nitrites
AMMONIAC	élément extrêmement toxique. Le taux élevé peut provenir de la décomposition d'un poisson ou d'un invertébré. L'ammoniac est encore plus toxique si le ph est élevé.
PHOSPHATES	Un taux de phosphates important peut être une source d'invasion par les algues, peut bloquer la croissance des coraux par absorption du calcium de l'eau indispensable à la formation du squelette corallien. Provient de la nourriture distribuée et par l'eau de rajout si elle n'est pas osmosée
CALCIUM	indispensable à la construction du squelette corallien. Il est présent dans l'eau de mer sous forme dissoute, et il est absorbé par les coraux (puis synthétisé) mais aussi par les mollusques (pour leur coquille). La synthèse du carbonate de calcium a besoin de 2 éléments : le dioxyde de carbone et le calcium sous forme ionique. La concentration en calcium diminue progressivement dans le bac car les organismes l'absorbent, il est nécessaire de procéder à un apport constant en calcium.

La qualité de l'eau est donc essentielle pour l'équilibre d'un aquarium. De même la lumière est indispensable pour la photosynthèse des algues mais aussi pour celle des dinoflagellés symbiotiques des coraux ou bédouilles. C'est pourquoi les lumières artificielles recréant la lumière naturelle (HQI) sont utilisées dans un aquarium ne pouvant bénéficier de lumière naturelle.

En fait d'adaptabilité des organismes marins, nous pourrions plutôt parler d'adaptation de nos techniques aux exigences des organismes marins. Car en deçà ou au-delà de certaines concentrations de composantes de l'eau, ou en deçà d'un certain éclairage, l'organisme marin ne s'adapte pas. Dans le cas des aquariums en circuit fermé c'est donc l'homme qui par son ingéniosité et sa technicité s'est adapté aux exigences des organismes marins.

Dans les aquariums en circuit d'eau de mer ouvert et lumière naturelle, l'homme se préoccupe moins des conditions physico-chimiques du milieu que dans les aquariums en circuit fermé. Les organismes placés en aquarium en circuit d'eau et de lumière naturelles sont en fait seulement soumis à :

- l'exiguïté de l'espace
- la distribution de nourriture
- la promiscuité

#### \* Présentation de l'Aquarium de Nouméa (figure 1)

L'Aquarium de Nouméa, situé entre deux baies présente:

- une station de pompage qui se trouve en bordure de mer
- un bassin de décantation sur une colline
- une partie basse qui regroupe les aquariums publics, les bureaux, les locaux techniques.

L'eau de mer est pompée directement dans la baie et alimente un bassin de décantation de 100 m<sup>3</sup> à partir duquel l'eau descend par gravité en continu vers les aquariums situés en aval. La température de l'eau à l'entrée du bassin de décantation est de 0,5°C supérieure à celle retournant à la mer. La salinité est en moyenne de 32,9 p.s.u. Ce système judicieux de circuit ouvert d'eau de mer, que l'on doit au pragmatisme des fondateurs : monsieur et madame Catala, présente tous les avantages pour permettre, à moindres coûts, le développement des organismes marins, notamment les invertébrés. L'inconvénient majeur est celui de la trop faible capacité de décantation du bassin lorsque la baie des citrons est troublée par les vents d'ouest violents. Cet aspect a été pris en compte pour la construction d'un nouveau bassin de décantation plus perfectionné. Il sera en effet équipé de chicanes supplémentaires qui viendront s'ajouter lorsque l'eau de mer sera trop chargée de matières en suspension.

Le plancher des bassins est recouvert de strates de débris de coraux morts puis de sable plus fin, l'ensemble jouant ainsi le rôle de filtre naturel sous sable. Puis l'eau de mer des aquariums retourne à la mer par gravité.



Figure 1 : L'eau de l'Aquarium est pompée dans la baie des citrons (orange) et rejetée à l'anse-Vata et à la baie des citrons (jaune)

Toutes les salles sont sous verrières et les bacs de l'Aquarium sont éclairés par la lumière naturelle à l'exception de ceux des tortues et des serpents qui sont éclairés par des lampes à halogénures métalliques, des nautilles qui sont soumis à une lumière bleue et des coraux fluorescents sous éclairage ultraviolet. En été, la lumière trop forte est atténuée par des toiles à ombrer disposées sur les verrières.

L'avantage de la lumière naturelle est indiscutable, tant d'un point de vue biologique que d'un point de vue esthétique. La lumière naturelle ne fige pas les couleurs et les nuances varient en fonction de la position du soleil donnant un aperçu encore plus vivant de la réalité.

Un surpresseur d'air installé sur le toit de l'aquarium fournit un complément d'air dans tous les bacs. Le décor des aquariums est naturel.

Les organismes vivants sont récoltés en plongée. Les poissons sont en général mis en bac d'observation pendant 48h avant d'être présentés au public. Les produits anesthésiants pour poissons sont à proscrire car s'ils permettent en effet une capture plus aisée, les stress causés aux organismes sont souvent plus meurtriers que s'ils sont capturés au filet ou à l'épuisette. La méthode « sportive », ponctuellement plus difficile pour les plongeurs est plus satisfaisante pour l'état des poissons qui sont conservés plus longtemps.

#### \* Observations de certains organismes récifaux en milieu confiné

L'aquarium offre un champ d'observation qui permet de noter des comportements, notamment chez les invertébrés, qu'il est rare de pouvoir observer in situ.

## 1. Les éponges

Parmi les invertébrés, les éponges, organismes filtreurs, ne peuvent s'adapter que si un courant d'eau permanent est présent. Les éponges ont un squelette échafaudé à partir de microscopiques spicules de silice (parfois de calcaire) dont l'arrangement est un véritable casse-tête pour les systématiciens. Une éponge est en fait une sorte de gros sac perforé de petits pores inhalants appelés les ostias et d'un pore exhalant, l'osculum. L'eau, riche du plancton dont se nourrit l'éponge, est aspirée par les pores inhalants et rejetée par l'osculum.

A l'aquarium, si elles ne se font pas manger par les poissons, elles s'adaptent bien, même si comme l'a relaté le Dr Catala dans son ouvrage « Offrandes de la mer », certaines éponges du genre *Halidona* perdent quelques fois leur couleur pour se recolorer quelques mois plus tard. Nous n'avons pas encore d'explication à ce sujet. Certaines d'entre elles savent particulièrement s'adapter, c'est le cas de *Thetya sp.* En effet, les éponges ne sont pas de grands migrants, nous le saurions et très peu d'ouvrages relatent la mobilité des éponges. Cependant l'observation de certaines d'entre elles en aquarium est intéressante. C'est l'exemple des petites éponges rondes *Tethya sp.*, récoltées par 25 m de profondeur et dont les couleurs varient du rouge-orangé au blanc cassé. Elles projettent tout autour d'elles des filaments de la taille d'un fil de soie, les rhizoïdes, qui leurs permettent de s'arrimer en divers points. Or il s'avère que l'observation de ces petites éponges a montré que certaines se déplaçaient de un à deux centimètres en 12h et que celles qui ne se déplaçaient pas produisaient des rhizoïdes assez épais. Ne sachant pas si les éponges étaient déplacées par le courant de l'aquarium ou si elles se déplaçaient « volontairement », il a fallu arrêter tout mouvement de l'eau pour constater qu'en fait leur déplacement était bien dû au mouvement de l'eau : en absence de courant elles restaient stationnaires et leurs rhizoïdes ne présentaient aucun épaissement. C'est en augmentant la force du courant de l'aquarium que les éponges ont alors renforcé le diamètre de leur rhizoïdes pour mieux se fixer et rester dans le courant pour mieux filtrer l'eau chargée de plancton.

## 2. Les Coraux

Les conditions de captivité des scléactiniaires à l'Aquarium de Nouméa sont telles qu'ils se développent et ne présentent aucune perturbation de leur cycle de reproduction. C'est d'ailleurs à l'Aquarium de Nouméa que l'on a pu assister pour la première fois en Nouvelle-Calédonie à la ponte des coraux.

### 2.1 Rappel des connaissances sur la reproduction des scléactiniaires.

On distingue les modes de reproduction suivants pour les scléactiniaires.

a - La fécondation interne :

les espèces hermaphrodites qui libèrent des planulae

les espèces dioïques qui libèrent des planulae

b - La fécondation externe :

les espèces hermaphrodites qui libèrent des ovules et des spermatozoïdes

les espèces dioïques qui libèrent des ovules et des spermatozoïdes

Les colonies de scléactiniaires mettent plusieurs années avant d'atteindre leur maturité sexuelle. Lorsque les pêcheurs cassent les colonies de coraux sur lesquelles ils s'appuient pour en récolter d'autres, cette fragmentation est certainement un facteur de blocage de la maturité sexuelle, car les coraux auront d'abord à reconstruire la colonie avant de pouvoir se reproduire.

Quel que soit le mode de reproduction des scléactiniaires, la gamétogenèse est la même pour tous.

Les stades de maturation (ovogenèse et spermatogenèse) sont approximativement synchrones un mois avant la libération des gamètes. La pigmentation des œufs et la présence d'organes génitaux mâles indiquent que la gamétogenèse est finie et que les gonades sont mûres. Les œufs de certaines espèces de Faviidae commencent à se pigmenter 4 à 6 semaines avant la ponte alors que ceux d'*Acropora sp.* ou de *Galaxea fascicularis* ne se colorent que 3 semaines avant leur expulsion. Leur couleur est variable selon les espèces ; mais ils sont souvent roses ou rouges. L'observation d'une coupe contenant des spermatozoïdes très mobiles et regroupés annonce en général une ponte très proche.

Depuis 1982, les observations de Kojis et Quinn laissent penser que le phénomène d'expulsion des gamètes, appelé communément « ponte en masse », suivi de la fécondation externe, pourrait être certainement le mode de reproduction le plus commun chez les scléactiniaires de la partie centrale de la Grande Barrière australienne. Ce phénomène observé régulièrement depuis 1981 sur la Grande Barrière australienne, obéit à des régulations exogènes.

La maturation des gamètes coïncide avec une évolution rapide de la température de l'eau de mer à la fin du printemps austral. Les cycles nycthémeraux provoquent la synchronisation de la ponte dont l'heure est généralement calquée sur celle de la marée basse ou étales (Babcock et al., 1986).

C'est à la période de calme précédant des changements de régime des vents que la ponte en masse est observée (Hollaway et al., 1985). Le phénomène de libération synchrone des gamètes est observé en général à marée étales ou marée basse.

Ces conditions de calme sont tout à fait propices à la fécondation externe car elles évitent ainsi une dispersion trop rapide des gamètes (Babcock et al., 1986).

Sur la côte ouest comme sur la côte est australienne, le phénomène se déclenche entre le crépuscule et 4 heures après, donc sous l'influence d'une diminution de la lumière (Babcock et al., 1986).

Pour ce qui est du comportement de ponte, trois types d'émissions de gamètes sont observés (Babcock et al., 1986) :

Type 1 : émission lente et continue durant de 5mn à 50mn ;

Type 2 : émission rapide et cyclique ; les gamètes sont expulsées par des contractions brèves et rapides des polypes de la colonie, ponctuées par une courte interruption ;

Type 3: ce type d'émission des gamètes est passif. Les gamètes sont expulsés par la bouche de chaque polype d'une manière passive.

## 2.2 Isolés de la plupart des facteurs exogènes régulant le phénomène de ponte en masse, les coraux peuvent-ils se reproduire en aquarium?

Avant 1988 en Nouvelle-Calédonie, aucune données de terrain n'avaient été enregistrées concernant ces phénomènes de ponte en masse. Des équipes de scientifiques (IRD, aquarium) ont, à partir de 1988, en mer et à l'aquarium tenté d'observer la ponte des scléactiniaires. Les bacs de l'aquarium étaient éclairés à l'aide d'une faible lumière afin de ne pas perturber une colonie sur le point de libérer ses gamètes.

Le 18 novembre 1989, après plusieurs soirées d'observations sans succès, la ponte en masse des coraux de l'aquarium a pu être observée.

Alors que les coraux pondaient à l'aquarium, le plongeur qui était en observation en mer a aussi constaté la ponte des coraux. Le milieu confiné de l'aquarium n'avait en rien perturbé ce rendez-vous de la nature. Le lendemain matin de larges traînées roses d'agrégats d'œufs de coraux ont aussi été observées dans le lagon.

La ponte en masse de novembre 1989 a été observée 5 nuits après la pleine lune à marée montante et pendant une période de baisse de régime des vents. De nombreux plaisanciers et pêcheurs, sensibilisés par les médias locaux, ont observés la ponte dans le lagon et sur le récif de toute la côte ouest de Nouvelle-Calédonie et en ont informé l'Aquarium.

Ces observations, réalisées en mer ou à l'Aquarium de Nouméa entre 1987 et 1997, ont permis d'établir une estimation de la période de ponte des coraux.

La température de l'eau se réchauffant plus nettement à partir de la seconde quinzaine de novembre, elle varie alors de 24,9 °C à 27 °C, la ponte a lieu soit fin novembre soit en décembre selon la date de la pleine lune, la ponte a lieu entre 3 à 6 nuits après la pleine lune. Elle se déclencherait à l'étale de marée basse ou à marée montante, entre 2 et 4 h après le crépuscule, au moment où les alizés est nord-est établis en octobre novembre tombent et sont inférieurs à 10 nœuds.

Il semble que la période de ponte soit décalée sur la côte est et aux îles Loyauté où la température de l'eau de mer se réchauffe plus tardivement.

Mais aucune observation in situ n'y a été réalisée.

Cependant une question reste en suspend : si la lumière et l'eau sont naturelles dans les bacs de l'Aquarium de Nouméa, ni le vent, ni les marées n'y sont ressentis. Peut-on parler d'horloge interne ? Parler d'éléments comme des phéromones qui se répandraient dans l'eau, elle-même, alimentant les bacs de l'aquarium, « donnerait le coup d'envoi » de la ponte? (figure 2)



Figure 2 : *Merulina ampliata* prêt à pondre.

## 2.3 Le recrutement larvaire et la croissance des scléactiniaires sont-ils possibles en aquarium?

La plupart des œufs sont riches en lipides et flottent à la surface de l'eau (observations de 1987 à 1997). La fécondation externe est observée 2 h à 2 h50 après l'émission des gamètes. La larve planula, ciliée et mobile, n'apparaît qu'un jour ou deux après la ponte (fig. 6) et nage librement 4 à 7 jours avant de se fixer (Babcock et al., 1986).

La larve planula complètement formée est ciliée et de forme oblongue. Ses deux feuilletés, ectoderme et endoderme, ainsi que la mésoglée, sont bien différenciés.

La planula issue de la fécondation interne est relativement grande (1 à 2mm) ce qui lui permettrait d'échapper aux prédateurs planctophages. En revanche la planula fruit de la fécondation externe est plus petite (0,075 à 0,2mm). La planula issue de la fécondation externe ayant peu de réserve doit, pour survivre, se nourrir rapidement. C'est ainsi qu'elle ingère des particules emprisonnées dans le mucus, qu'elle capture, à l'aide de mouvements des cils. Goreau (1981) a observé sur des larves issues de fécondation externe, telles que celles de *Porites porites*, une diminution rapide de la vitalité de la larve par manque de nourriture ; par ailleurs, les larves provenant de la fécondation interne ont un besoin nutritif moindre, car dès l'expulsion, elles ont des réserves (70% de lipides, 17% de protéines, 13% de glucides chez la larve de *Pocillopora damicornis*) (Richmond, 1987) ; de plus, ces larves se fixent généralement rapidement (1 à 2 jours après l'expulsion).

Etant souvent déjà infestées par les zooxanthelles, les planulae peuvent s'en nourrir et être, dans ce cas précis, symbiotrophes.

Les larves planctoniques nagent en surface. Elles effectuent des mouvements de rotation, sont héliotropes et ont un géotropisme négatif. Lorsqu'elles deviennent rampantes, elles préfèrent alors les surfaces ombragées et ont un phototactisme négatif, ce qui est paradoxal, puisque la lumière est nécessaire aux algues symbiotiques et à la croissance des juvéniles.

Il semble que la protection contre les prédateurs et la lutte contre la sédimentation soient des facteurs plus déterminants que la lumière à cette période de leur existence. Avant de se fixer, la larve planula subit quelques métamorphoses. L'ectoderme s'invagine pour former la bouche et le stomodeum, alors que l'endoderme se plisse pour former les crêtes qui deviendront les premiers septes. La qualité du substrat sur lequel se fixent les larves est sujette à discussion. Certains auteurs considèrent que les qualités biologiques (présence de diatomées et film bactérien) sont primordiales pour la fixation (Harrigan, 1972 ; Loya, 1976b) alors que d'autres pensent que la nature du substrat n'a aucune importance pour les larves (Lewis, 1974, 1981 ; Fadhlallah, 1983). Chacun, cependant, s'accorde à dire que le substrat de fixation des larves doit être dur (squelette ou rocher), bien que certaines planulae se déposent sur des substrats meubles (sable), ce qui est le cas pour *Heteropsammia cochlea* (Veron et Pichon, 1980) et bien d'autres tels que les *Trachyphyllia*.

Les parois de l'aquarium ont été des supports très favorables à la fixation de nombreuses larves de scléactiniaires qui ont par la suite montré une croissance régulière. C'est l'exemple d'une larve d'*Echinopora lamellosa*, provenant du milieu naturel, qui s'est déposée dans les années 70 sur une paroi d'un bassin de l'Aquarium de Nouméa, et qui a grandi régulièrement (figures 3 à 6).

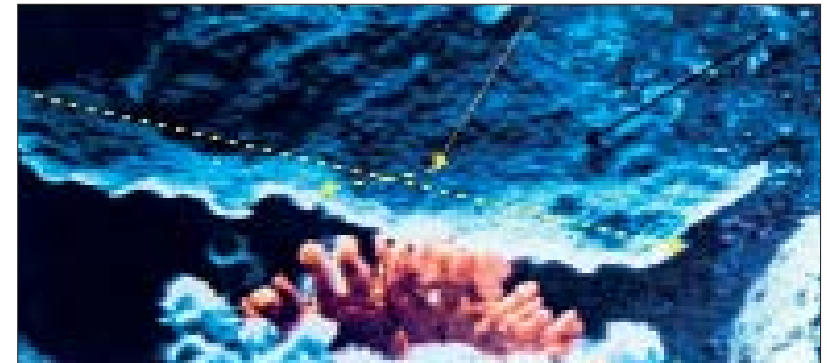


Figure 3 : *Echinopora lamellosa*, n° 27, juin 1981, Aquarium de Nouméa, bac n°3

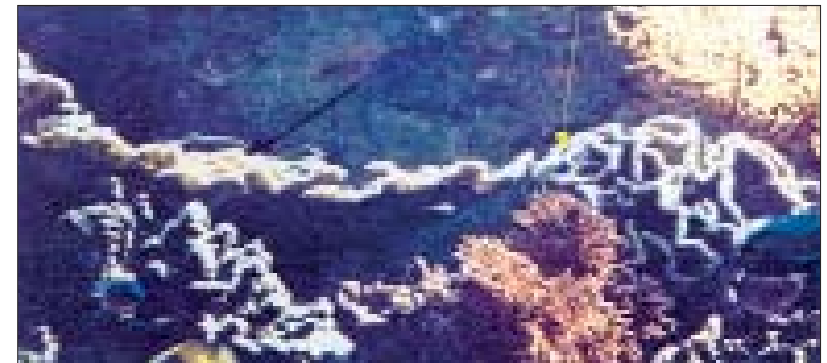


Figure 4 : *Echinopora lamellosa*, n° 27, janvier 1989, Aquarium de Nouméa, bac n°3



Figure 5 : *Echinopora lamellosa*, n° 27, juillet 1999, Aquarium de Nouméa, bac n°3



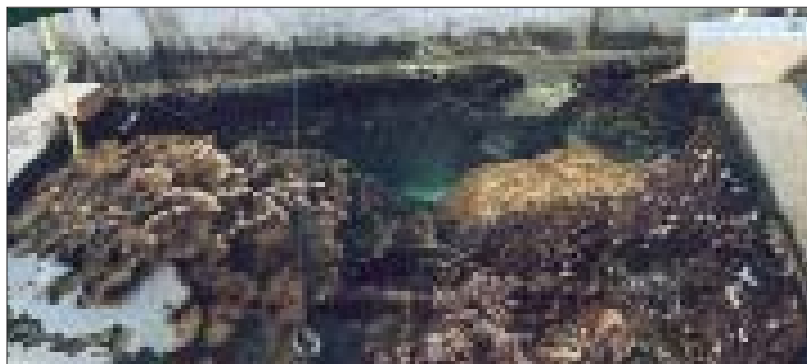


Figure 6 : *Echinopora lamellosa*, n°27, juillet 2002, Aquarium de Nouméa, bac n°3

Le réchauffement de l'eau de mer favoriserait la fixation du calcium et faciliterait la construction du squelette calcaire.

Les jeunes colonies de coraux semblent croître plus rapidement que les adultes de la même espèce (tel est le cas de *Goniopora sp.*, *Pocillopora damicornis* et *Seriatopora hystrix*). L'énergie développée par les jeunes colonies serait essentiellement dirigée vers la croissance, alors qu'elle semble être partagée entre la reproduction et la croissance chez les colonies adultes.

#### 2.4 Comment se manifeste l'adaptation à l'exiguïté de l'espace chez les scléactiniaires en aquarium?

L'adaptation au milieu confiné passe chez les scléactiniaires par une lutte pour l'espace. Dans l'un des bacs (n°3) de l'Aquarium de Nouméa nous avons pu constater l'agression régulière par un *Psammocora sp.* projetant des filaments méésentériques à activité digestive à l'encontre d'une colonie de *Pavona decussata* qui, ne pouvant croître normalement, a dévié son axe de croissance pendant une dizaine d'années (fig. 12). Dans ce bac, les coraux se développent particulièrement bien et certaines colonies situées plus en surface (notamment *Echinopora lamellosa*) occultaient, en s'accroissant, une partie de la lumière nécessaire à la croissance des colonies situées plus en profondeur dans l'aquarium, les obligeant à dévier, à leur tour, leur axe de croissance. C'est ainsi qu'à la fin de l'année 1994, une autre colonie de *Pavona*, *Pavona cactus*, s'étant déviée de son axe principal de croissance, s'est rapprochée de la colonie de *Psammocora sp.* et l'a agressée à son tour. La colonie de *Psammocora sp.*, contrainte de ré-orienter sa croissance, a alors troqué une forme arrondie par une forme plus allongée (figure 7).



Figure 7 : Agression d'une colonie de *Pavona decussata* par un *Psammocora sp.*

Par ailleurs dans ce même bac, deux colonies d'*Acropora pulchra* certainement issues de la période de reproduction de novembre 1988, se développaient sur la même paroi verticale. Séparées de quelques centimètres l'une de l'autre, elles effleuraient la surface de l'eau et recevaient un ensoleillement et une arrivée d'eau identiques. Cependant les colonies ne présentaient pas le même développement. L'une grandissait régulièrement alors que l'autre, rapidement envahie par des algues cyanophycées filamenteuses, a cessé de croître dès septembre 1989, permettant à l'autre d'occuper l'espace. Est-ce, ici aussi, un phénomène de lutte pour l'espace qui a été la cause de la mort d'une colonie?

Par ailleurs, en mer les coraux sont soumis au ressac et mouvement de la mer, en aquarium le courant est beaucoup plus faible, il n'y a pas de mouvement de masse d'eau et il semblerait que la calcification soit moins forte. C'est ainsi que les colonies mettent plus d'énergie à la croissance et n'ont pas à se consolider pour résister aux pressions des courants. Ils sont donc moins « solides » en aquarium. C'est ainsi que la colonie d'*Acropora* n'a pas résisté à son propre poids et s'est cassée. La colonie n'a pas pour autant été retirée de l'aquarium mais a été déposée sur une colonie morte par blanchissement et affleurant la surface de l'eau. On a assisté alors à l'arrêt de la croissance en hauteur avec formations de boursouffures de l'apex des branches situées à la surface de l'eau et réitération des branches cassées.

Chez les scléactiniaires, lorsqu'un traumatisme perturbe la colonie, l'ensemble du programme de l'individu est répété. C'est ce que Oldeman (1974) appelle la réitération ; « c'est un mode de ramification impossible à prévoir dans la localisation topographique, avec les seules données du modèle menant à la duplication complète ou partielle de celui-ci à partir de méristèmes non contenus dans l'embryon ». Cette définition donnée pour les végétaux peut aussi s'appliquer aux coraux. La réitération chez les coraux compenserait l'absence de mobilité due à leur fixation et permettrait aux colonies de lutter pour leur développement spatial.

## 2.5 L'effet de l'éclairage ultra-violet sur les scléactiniaires

Les fondateurs de l'Aquarium, le Dr Catala et son épouse, ont découvert en 1957 la fluorescence d'un corail, remonté d'un fond vaseux de 35 m de profondeur. Depuis ces organismes sont présentés à l'Aquarium de Nouméa en permanence. Ils sont récoltés aussi bien sur des fonds de vase littorale qu'à l'extérieur du lagon dans 15 m de profondeur. Les coraux soumis à un éclairage UV présentent une gamme de couleurs fluorescentes allant du vert foncé au jaune lumineux en passant par toute une série de rouges et d'orangés (figure 8).



Figure 8 : *Cynarina lacrimalis* au centre de ces coraux fluorescents

Il est à noter que dans une même espèce il peut y avoir des fluorescences tout à fait différentes, et c'est en particulier le cas des *Trachyphyllia geoffroyi*. Seules les parties vivantes de l'animal réagissent à l'éclairage U-V. Le squelette calcaire ne produit aucune fluorescence. Dans les années soixante, quelques chercheurs (E. Lederer, Institut de biologie physico-chimique de Paris ; M. Deribère, compagnie Mazda ; Dr Destombes, Institut Pasteur de Paris et Y. Peloux, Institut Pasteur de Nouméa) ont découvert que les pigments responsables des propriétés fluorescentes appartiennent aux groupes des flavines, urobilines et ptéridines (Peloux, 1960).

Les granulations constituant le support des pigments sont situées dans l'endoderme ou l'ectoderme des colonies selon les genres.

Les scléactiniaires s'adaptent mal aux conditions actuelles d'éclairage par UV. En aquarium, soumis à 8h d'UV par jour, ils ne vivent en effet qu'entre 3 et 12 mois selon les colonies. Pour essayer de pallier à ce « stress » un appoint de lumière naturelle leur est donné en absence de public, mais ce n'est pas suffisant. Aussi lorsqu'ils présentent un blanchissement, ils sont alors déplacés dans des bacs en lumière naturelle où ils récupèrent en général leurs couleurs relativement rapidement (moins d'un mois).

## 2.6 Le stress thermique touche-t-il les scléactiniaires en aquarium?

Il est fréquent de remarquer très ponctuellement un blanchissement de quelques colonies de coraux en période estivale. En 1996, un phénomène de blanchissement important s'est produit dans les récifs de Nouvelle-Calédonie (figure 9) mais aussi dans les bassins de l'Aquarium de Nouméa.



Figure 9 : Blanchissement d'une colonie de *Merulina ampliata*, récif de l'îlot canard (1996)

Le blanchissement du corail se manifeste par le changement rapide ou graduel (selon les colonies) de la couleur naturelle en couleur blanche lumineuse ou fluorescente rose, jaune ou bleu pastel. Cette dépigmentation, en réaction à un stress ou à des conditions anormales du milieu, est le fruit d'une rupture de l'association symbiotique entre les polypes du corail et ses endosymbiotes : les zooxanthelles.

Ce phénomène relaté depuis 1931 a été particulièrement bien observé dès 1983 dans l'Indopacifique, dans l'île de Mayotte (Faure et al., 1984) et aux Caraïbes en 1987. Depuis il est suivi régulièrement (Rougerie-Salvat 1992).

Les observations qui suivent, faites en aquarium, soulèvent de nombreuses questions. En 1996, de nombreuses colonies et en particulier celles du genre *Acropora* ont présenté en mer des fluorescences anormales dans un dégradé de pastel. Quelques unes d'entre elles ont été prélevées et soumises à l'éclairage UV. L'effet de fluorescence a été remarquable alors qu'en temps ordinaire ces *Acropora* ne présentaient pas de réaction sous UV.

Dans les bassins en lumière naturelle de l'Aquarium de Nouméa, nous avons en 1996, constaté un phénomène de blanchissement sur 17 colonies de scléactiniaires, sur des alcyonaires et sur deux actinies. Le blanchissement a été observé dès le mois

de mars 1996 et si deux colonies (*Achrelia* et *Goniopora*) sont mortes, les autres, dont les alcyonaires et les anémones, ont survécu et ont mis environ six mois à retrouver leur couleur naturelle.

Dans un bac (n°4), alors que des colonies de *Goniopora*, de *Plerogyra*, de *Psammocora* et de *Montipora* blanchissaient, un *Porites* devenait plus foncé (figure 10). Il est à noter que chaque année en période estivale (janvier, février et mars), la colonie d'*Echinopora*, née il y a 30 ans à l'Aquarium (bac n°3), se dépigmentait et retrouvait sa couleur dès que la température de l'eau rafraîchissait. Cette année là, cette colonie a présenté une pigmentation plus intense, alors que, dans ce même bac, des colonies d'*Achrelia*, de *Pachyseris* et *Pavona* se dépigmentaient.



Figure 10 : Bac 4, mars 1996 : *Porites lutea*, au centre (flèche verte) brunit alors que les autres colonies blanchissent (flèche jaune).

Les services de Météo-France ont communiqué que les données de rayonnement, d'insolation et de température de l'air pour les mois de janvier et février 1996 étaient largement supérieures aux normales saisonnières depuis 30 ans. L'écart à la normale est plus marqué au mois de février au cours duquel des pointes de chaleur ont été enregistrées ainsi qu'une période de mer calme remarquable.

Ces données climatologiques pourraient elles confirmer la thèse du stress thermique qui indique que le blanchissement serait lié à une conjonction de l'augmentation de température de l'eau et à une forte irradiation ultraviolette (Rougerie-Salvat 1992)?

Ces observations réalisées à l'Aquarium de Nouméa posent plusieurs questions encore sans réponse.

- **Question 1** : pourquoi dans un milieu relativement confiné, certaines colonies soumises aux mêmes conditions, blanchissent et d'autres pas
- **Question 2** : les zooxanthelles sortant de certaines colonies de scléactiniaires sont elles capables d'aller coloniser d'autres colonies?
- **Question 3** : la dépigmentation des scléactiniaires due à l'expulsion des endosymbiotes confère à ces organismes une fluorescence facile à mettre en évidence. La quantité de zooxanthelles présente dans les tissus de l'animal serait-elle à l'origine non seulement de la couleur naturelle des scléactiniaires mais masquerait-elle aussi l'impact des U.V. sur les pigments responsables (flavoprotéines) de l'émission des couleurs fluorescentes? Les coraux seraient-ils donc tous fluorescents?
- **Question 4** : pourquoi le blanchissement n'est il pas fatal à toutes les colonies?
- **Question 5** : quelle est la corrélation entre le blanchissement et la présence de bactéries *Vibrio shilov* et *Vibrio corallilyticus*? Quels seraient le ou les facteurs de l'environnement qui les activeraient et provoqueraient la sortie des endosymbiotes?

### 3. L'*Acanthaster planci*: cas d'adaptation à l'exiguïté sous condition

Le prédateur redoutable du corail est l'étoile de mer *Acanthaster planci* (figure 11) qui se nourrit essentiellement du polype du corail et fait de véritables ravages, surtout lorsqu'elle est en groupe. Après son passage, il ne reste du corail que son squelette qui apparaît tout blanc. En aquarium elles ne présentent aucun signe d'inadaptation pour peu qu'on leur fournisse régulièrement quelques branches d'*Acropora* sp. Aucune autre nourriture ne lui convient et dépérit rapidement si elle n'a pas quelques polypes à se mettre sous la bouche.

Les piquants de cette étoile de mer sont extrêmement venimeux et il est conseillé de ne pas les toucher. Les piqûres provoquent une violente douleur immédiate, puis des nausées, des vomissements, de la fièvre et une grande fatigue. La douleur peut être persistante plusieurs jours ou quelques semaines.



Figure 11 : L'*Acanthaster planci* est l'un des prédateurs du corail

Le prédateur de cette étoile de mer est un mollusque communément appelé toutoute ou conque (*Charonia tritonis*). L'observation du comportement de l'étoile de mer en présence de son prédateur est spectaculaire. Dès que l'on dépose une toutoute dans le bassin, l'étoile de mer panique et rampe à toute vitesse vers une cachette. Lorsque la toutoute la capture, il appuie son pied charnu sur sa proie, glisse sa trompe sous l'étoile pour atteindre la face ventrale qu'il dévore lentement. Bien entendu la cohabitation est fortement déconseillée si l'on veut présenter au public le prédateur des scléractiniaires.

#### 4. Les nautilus : adaptation spectaculaire d'un organisme de profondeur

Placides témoins d'un passé que l'homme n'a jamais connu, les nautilus, mollusques céphalopodes, sont apparus à la fin de l'ère secondaire ou mésozoïque, certainement à la période du Crétacé (-135 à -65 millions d'années). Le genre *Nautilus* comporte plusieurs espèces dont *Nautilus macromphalus*, espèce endémique à la Nouvelle-Calédonie. L'Aquarium de Nouméa a été le premier à présenter, en permanence, des Nautilus.

Le bac qui les reçoit est éclairé par une lumière bleutée, l'eau de mer naturelle est refroidie et varie entre 18 et 22°. Plutôt calmes et peu mobiles dans les températures plus froides, ils s'agitent vers 18°C à 20°C.

Les nautilus présentés au public sont généralement capturés dans des casiers, contenant du poisson, descendus à 150m de profondeur. Le nautilus fréquente en effet les profondeurs de l'océan entre une vingtaine de mètres et 600m ; au-delà sa coquille implose.

Seul céphalopode actuel à coquille externe, le nautilus enroule sa coquille régulièrement en spirale logarithmique. Il habite la dernière loge de la coquille qui en comprend une trentaine à l'âge adulte. Les loges remplies de gaz lui permettent d'avoir une flottabilité légèrement négative, l'empêchant de couler. Le nautilus pulse l'eau et se propulse grâce à sa tuyère située sous la bouche. La bouche, au centre du collier de tentacules est munie de deux mandibules puissantes. Il se nourrit de poissons, de crustacés et aime particulièrement les mues de langoustes. En aquarium, les nautilus sont plutôt calmes et ne se propulsent pas beaucoup, mais si l'on plonge au centre du bassin une mue de langouste, l'effet est immédiat : la présence de la proie les « réveille » tous et ils s'y précipitent.

De chaque côté de la tête, deux yeux ronds pédonculés et dépourvus de cristallin, très simples, lui permettent de distinguer les variations de lumière. La tête est surmontée d'un capuchon protecteur qui devient plus clair lorsque l'animal est stressé. Certains des 90 tentacules sans ventouse qui entourent sa bouche sont modifiés en organes sexuels, dont le spadix, chez le mâle. Lors de l'accouplement, cet organe sert à déposer dans l'organe sexuel femelle les spermatophores : sacs contenant les spermatozoïdes produit par un testicule blanc crème en forme de poire.

Dans ces conditions de lumière et de température de l'eau, la captivité ne semble

pas perturber l'accouplement des nautilus. Observé en aquarium, il peut durer plus de 24h. Une dizaine de jours après, la femelle pond entre un et six œufs de forme oblongue, mesurant de 25 à 35mm de haut (figure 12). La période d'incubation des œufs est de 11 mois et la température d'incubation de 22°C à 24°C.

Il a fallu attendre le 20 juin 2000 pour voir naître les premiers nautilus à l'Aquarium de Nouméa. Le comportement de ponte in situ n'est pas connu. Personne n'a jamais récolté d'œufs ou vu des bébés nautilus évoluer dans le milieu naturel.

Les femelles en captivité cachent généralement leurs œufs derrière les rochers et les déposent rarement sur les parois les plus exposées. A partir des observations du comportement de ponte faites en aquarium, où la température de l'eau était refroidie à 21-22°C, il est possible de faire l'hypothèse que les femelles remontent des profondeurs, vers les eaux plus chaudes - réminiscence de leur milieu d'origine car au crétacé, les nautilus évoluaient dans des eaux plutôt tropicales? - pour déposer leurs œufs en choisissant certainement les anfractuosités des parois coralliennes les plus difficiles à atteindre par d'éventuels prédateurs.



Figure 12 : *Nautilus macromphalus* et deux œufs

L'éclosion des œufs est en fait très lente et le petit nautilé peut sortir de sa coquille soit en quelques heures soit en plusieurs jours (36 à 43 jours selon nos observations). Miniature de l'adulte à l'éclosion (figure 13), sa durée de vie sera d'environ six ans, s'il n'est pas broyé par un poulpe, redoutable prédateur des nautilés.



Figure 13 : Jeune nautilé venant de naître

Ainsi l'adaptation de ces organismes à la captivité a permis aux scientifiques de mieux connaître cet animal dont le biotope naturel est difficilement accessible.

## 5. Langoustes et cigales de mer : des organismes qui supportent mal la promiscuité

Onze espèces de langoustes et sept espèces de cigales sont recensées actuellement en Nouvelle-Calédonie. Elles vivent à l'abri des récifs coralliens. La plus répandue est la grosse porcelaine (*Panulirus ornatus*) qui peut atteindre plus de 10 kg, le record étant, en Nouvelle-Calédonie, de 21 kg.

Langoustes et cigales de mer sont isolées dans un bac particulier d'une part pour éviter qu'elles ne bousculent sur leur passage les décors naturels, même les mieux fixés, qui ont des difficultés à résister au passage des crustacés et d'autre part parce qu'elles sont particulièrement fragiles en période de mue. Elles se font en effet attaquer de toute part par les poissons de récif même si dans leur propre groupe elles ne sont pas totalement à l'abri d'une agression.

## 6. La captivité révèle-t-elle des talents d'artistes?

La squille (*Odontodactylus scyllarus*) est un crustacé stomatopode, qui vit dans un terrier et se nourrit de la chair des coquillages qu'elle casse grâce à ses deux puissantes pattes mâchoires rétractées sous son corps aux couleurs vives (figure 14).

Par ailleurs, les squilles qui se terrent dans les fonds de vase ou sous les rochers peuvent décocher un coup de patte très coupant à celui qui s'approche de leur habitat. La plaie douloureuse se soigne comme une blessure normale. L'une d'entre elles avait ainsi brisé la vitre de son bac d'un coup violent.

En aquarium certaines ont un comportement original qui n'est pas décrit dans le milieu naturel, tel que thésauriser dans son terrier toutes les éponges ou les coraux très colorés au détriment de l'équilibre esthétique de bac!

Une autre, alors qu'elle portait ses œufs sous son abdomen, en faisait une pelote dont elle se libérait et déposait dans son terrier avant de sortir ; dès son retour au nid, elle reprenait ses œufs et les ventilait sans relâche, jusqu'à éclosion. Phénomène jamais observé *in situ*.



Figure 14 : *Odontodactylus scyllarus* aux pattes puissantes et tranchantes rétractées sous le corps

## 7. Les Poissons

### 7.1 La promiscuité peut-elle aller contre le comportement social naturel?

Il existe environ 10% des familles de poissons qui sont transsexuelles ou hermaphrodites. La transformation femelle en mâle représente 9% des familles, et c'est le cas des mérous, loches, girelles, anthias et poissons oiseaux.

La transformation mâle en femelle représente environ 1% des familles, c'est le cas des Sparidés et des Pomacentridés.

Bien qu'il soit très difficile à capturer, tant il est vif, le poisson « oiseau » *Gomphosus varius*, au long bec est présenté dans l'un des bacs. Le mâle bleu-vert se distingue de la femelle de couleur brune dotée d'un bec orange. Le mâle est généralement à la tête d'un harem de quelques femelles. Les poissons oiseaux sont hermaphrodites protogynes, c'est-à-dire qu'ils naissent tous femelles, et c'est l'une des femelles dominantes qui se transforme en mâle. La littérature explique généralement les changements de sexe comme un comportement social pour lequel une femelle se transforme en mâle pour remplacer le mâle absent.

Une observation faite en aquarium est intéressante à relater. Dans le bac de présentation de ces poissons oiseaux, trois femelles, une grande et deux petites, partageaient l'espace avec un mâle. Puis la plus grande des femelles commença à changer de couleur et pendant près d'une année sa livrée se rapprochait petit à petit de celle d'un mâle sans que cela ne perturbe le comportement du mâle en place. La transformation finie, le nouveau jeune mâle plus conquérant que jamais agressa le plus ancien et la vie dans cet aquarium prit les couleurs du drame. Un matin, le vieux mâle avait disparu, le calme régnait dans le bac, le nouveau mâle semblait très paisible et les petites femelles tout autant. Après une agression trop violente de son nouveau rival, le vieux mâle avait certainement sauté hors de l'eau et était retombé, heureusement pour lui, dans le bassin mitoyen où nous l'avons vu par la suite évoluer plus sereinement.

L'âge de l'animal, en relation avec sa taille, intervient certainement sur le déclenchement du changement de livrée, de comportement et de sexe. In situ les femelles, plus nombreuses que les mâles, ayant atteint l'âge de devenir mâle, ne quitteraient-elles pas le harem pour aller en créer un autre ailleurs, après s'être transformées en mâles? La captivité et l'exiguïté stimule la compétition mais ne stoppe pas les règles biologiques. Le comportement social devient plus agressif mais n'est pas arrêté.

### 7.2 Les poissons-pierres : adaptation et camouflage

Parmi les 1200 espèces de poissons qui peuplent les eaux calédonniennes certaines peuvent être particulièrement dangereuses comme le poisson-pierre (*Synanceia verrucosa*), très peu farouche et difficile à voir tant il est expert en camouflage (figure 15, 16).

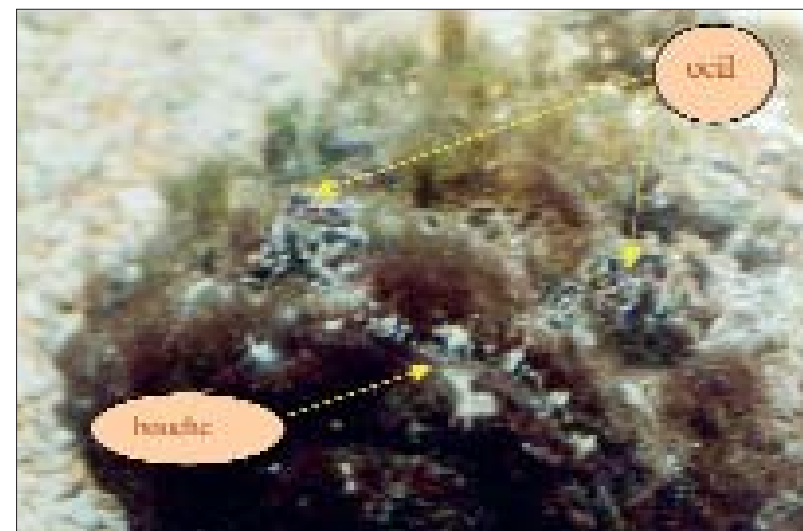


Figure 15 : Camouflage parfait du poisson-pierre



Figure 16 : Epines dorsales du poisson-pierre sorties de leur gaine

En aquarium, après avoir mué, il prendra les couleurs dominantes du milieu et continuera à avoir un comportement de chasseur, même s'il accepte la nourriture morte.

### 7.3 Adaptation à l'exiguïté?

Les poissons-anges, poissons coralliens communs, ont une toute petite bouche et se nourrissent d'algues, d'éponges ou d'invertébrés divers. Leur corps comprimé latéralement présente des couleurs vives. Ces poissons sont généralement femelles à la naissance et deviennent mâles plus tard (ils sont hermaphrodites protogynes). La livrée des juvéniles est différente de celles des adultes. Le poisson-empereur (*Pomacanthus imperator*) de l'ancien aquarium, surnommé « Zorro » en raison de son bandeau bleu nuit sur les yeux, arrivé juvénile à l'aquarium au début des années 1990 avait une livrée bleue et blanche. En grandissant sa livrée s'est transformée pour aboutir à la livrée adulte. Il semble que l'exiguïté du bac (n°4) de l'ancien aquarium, ait perturbé sa croissance. Pour son âge, il semble en effet montrer une croissance ralentie. Est-ce un cas rapide d'adaptation à l'exiguïté du bac. Le transfert dans un bassin de 80m<sup>3</sup>, lui permettra-t-il de grandir?

Ce genre d'adaptation de la croissance à l'exiguïté du lieu a aussi été constaté avec un poisson Napoléon (*Cheilinus undulatus*), dont la taille ne dépassait pas 90 cm à l'âge adulte alors qu'il aurait dû atteindre 1,40m Le napoléon est le plus grand des Labridae, souvent solitaire et assez peu farouche, il peut atteindre plus de 2 m de long! Les jeunes ont une livrée très claire et les yeux marqués de deux traits noirs qui disparaissent à l'âge adulte. La bosse frontale, caractéristique se marque fortement en vieillissant.

Le Napoléon peut montrer une certaine facilité d'appivoisement, l'un d'eux en effet, arrivé juvénile à l'Aquarium en 1989 était complètement apprivoisé et se laissait fréquemment approcher et caresser. En 1996, il nous a montré par son comportement combien il ne supportait pas la venue de plus gros que lui. Nous avons en effet introduit dans le bac un jeune requin (*Carcharinus melanopterus*), ayant à peu près la même taille que lui. La présence de ce nouveau compagnon, a provoqué chez lui une colère « bleue » ; il est en effet devenu bleu foncé et a attaqué violemment en frappant de sa tête le ventre du requin. Immédiatement les techniciens qui, de l'autre côté de la vitre regardaient le spectacle, se sont précipités au dessus du bac et ont fait cesser l'agression. Le napoléon s'est réfugié dans un coin de l'aquarium et a « boudé » le reste de la journée en conservant sa livrée bleu foncé. Le lendemain il avait repris sa couleur et cohabitait avec le requin qui gardait ses distances. Le poisson Napoléon avait donc reconstruit son territoire et a vécu l'intrusion de jeune requin comme une agression. En milieu naturel un tel comportement paraît plutôt improbable.

### 7.4. Adaptation au nourrissage

Autre marque d'adaptation et de « réflexe pavlovien »: le cas du « danseur de tamouré ». Nous avons baptisé ainsi un poisson ballon *Arothron hispidus* dont la vitre du bac donnait sur un long couloir. Dès que le soigneur apparaissait avec sa boîte de nourriture

au fond du couloir, le poisson se campait devant la vitre et entamait une sorte de dandinement qui évoquait le tamouré polynésien et ce jusqu'à ce que le soigneur ouvre la porte de la salle. A ce moment là il montait en surface et attendait la nourriture. Voyait-il à travers la vitre le soigneur, entendait-il un bruit particulier caractéristique de l'annonce de nourriture? Alors qu'il avait particulièrement grossi, nous l'avons changé de bassin pour qu'il ait plus de place, et ce comportement s'est arrêté, mais il était toujours le premier à venir réclamer en surface sa part de nourriture.

## 8. Les reptiles marins

### 8.1 Les serpents

Il existe en Nouvelle-Calédonie une douzaine d'espèces de serpents marins dont les seuls amphibiens sont les tricots rayés (*Laticauda colubrina* ou *Laticauda laticaudata*) qui vivent sur les îlots, lovés sous des rochers, dans le pourpier du bord de mer (*Sesuvium portulacastrum*) ou encore entre les feuilles du liseron du bord de mer (*Ipomoea pes-caprae*). Ils nichent à terre et chassent dans l'eau les petites murènes ou poissons longiformes dont ils se nourrissent.

Leur respiration est pulmonaire, ils sont donc obligés de faire surface pour respirer. Leurs apnées peuvent durer plus d'une heure.

Bien que leur ouverture de bouche leur permette de mordre n'importe quelle partie du corps, ces serpents craintifs ne sont absolument pas agressifs envers l'homme. Cependant ces animaux sont extrêmement venimeux. Le venin est, pour une même dose, bien plus fort que celui du cobra. Le venin est composé de neurotoxines, de types curarisantes, synthétisées en une minute environ par les acides aminés de la glande à venin dans laquelle il séjourne environ deux jours. Les Laticauda sont munis de deux crochets à l'avant de leurs bouches ce qui leur permet de mordre et d'injecter leur venin mortel dans le corps de leurs proies.

En aquarium, ils se nourrissent peu ou pas ; leur durée de jeûne étant d'environ deux mois, nous opérions régulièrement (tous les mois) à un relâcher sur le site d'origine et une nouvelle capture ailleurs.

En période de reproduction la captivité ne semble pas perturber le comportement de l'accouplement puisque nous avons pu y assister en février 1993, ce qui était, un événement tant cette observation est rare. Le mâle avait d'abord posé sa tête puis son corps sur la femelle en effectuant un tapotement régulier sur le corps de la femelle (figure 17).



Figure 17 : Comportement de reproduction : le mâle rapproche sa tête de celle de la femelle avant de la poser dessus.

Pendant l'accouplement d'une durée d'environ une heure, le mâle maintenait ses soubresauts. Ensuite, à notre grand étonnement, il était aller boire dans un coquillage rempli d'eau douce. Les serpents sont ovipares et pondent des œufs allongés de couleur crème et de 7cm de long. In situ, personne n'a jamais vu d'œufs de tricot rayé. On peut supposer que la femelle enfouit ses œufs dans le sable du nid, sous les rochers. En aquarium, une femelle gravide avait, en février 1993, pondu deux œufs sur le sable de l'aquarium mais ceux-ci n'ont pas éclos.

## 8.2 Les tortues

Quant aux tortues elles semblent s'adapter à la captivité mais l'accouplement n'a jamais été observé. Par ailleurs, dès qu'elles atteignaient une taille de plus de 60 cm de longueur de carapace elles étaient marquées et remises en liberté. Le relâché était toujours une épreuve émotionnelle pour nous, mais elles, n'avaient qu'une fraction de seconde d'hésitation avant de s'envoler vers la liberté.

## Conclusion

Parmi les invertébrés, l'adaptation au milieu confiné est donc plutôt satisfaisante dans l'ensemble. Parmi les vertébrés des problèmes d'adaptation sont rencontrés chez les serpents marins qui ne se nourrissent pas en milieu confiné, chez les poissons

pélagiques qui, adultes, sont beaucoup trop stressés et ne s'adaptent pas à l'exiguïté des aquariums. De plus, l'adaptation s'accompagne parfois de différences physiologiques entre individus libres et en captivité, comme par exemple une livrée adulte à des tailles inférieures malgré une nourriture *ad libitum*.

En conclusion, l'adaptation et la reconstitution de la niche écologique en milieu confiné semble plutôt satisfaisante. Cette adaptabilité des organismes à la vie en aquarium permet de faire des observations impossibles *in situ* comme pour la lutte spatiale entre coraux ou encore le comportement de ponte des nautes. Des comportements parfois inattendus sont aussi observés, telle l'attraction des squilles pour les couleurs vives.

## Références

- Babcock R.C. et al. (1986).** Synchronous spawnings of 05 scleractinian coral species on the Great Barrier Reef. *Mar. Biol.* 90: 379-394.
- Catala R. (1980).** Offrandes de la mer. Les éditions du pacifique, 336p.
- Connell J.H. (1973).** Population ecology of reef-building corals in: Jones O.A and Edean R. (eds.). *Biology and Geology of Coral reefs.* New-York Acad. Press. Biol. 1. Vol. 2: 205-245.
- Fadhallah Y.M. (1983).** Sexual reproduction, development and larval biology in scleractinian corals. *Coral Reefs*, 2: 129-150.
- Faure C. et al. (1984).** Sur un phénomène remarquable de blanchiment et mortalité massive des madréporaires dans le complexe récifal de l'île de Mayotte (S.W. Océan Indien). *C.R. Acad. Sc. Paris*, 299, Série III, n°15: 637-642.
- Fournier S. et Leclercq.** in site web : <http://www.recif-france.com>
- Harriot V.J. (1983).** Reproductive ecology of four scleractinian species at Lizard Island, Great Barrier Reef. *Coral Reefs* 2: 9-18.
- Harriot V.J. (1983).** Reproductive seasonality, settlement, and post-settlement mortality of *Pocillopora damicornis* (Linnaeus), at Lizard Island, Great Barrier Reef. *Coral Reefs* 2: 151-157.
- Hollaway P.E., Nye H.C. (1985).** Leeuwin current and wind distributions on the southern part of the Australian north-west shelf between January 1982 and July 1983. *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.* 36: 123-137.
- Joannot P., Bour W. (1988).** Estimation de la biomasse de la famille des *Faviidae* d'un récif exploité de Nouvelle-Calédonie. Colloque sur les ressources halieutiques côtières du Pacifique. 14-24 mars 1988. Nouméa. Comm.Pacif.Sud.
- Joannot P. (1990).** Étude d'un récif exploité pour son corail : le récif Tétémbia, Nouvelle-Calédonie. Recrutement et croissance des madréporaires ; dynamique du stock et exploitation rationnelle. Thèse de doctorat Univ. Aix-Marseille II.
- Joannot P. (1991).** Les coraux médicaux, Troisième Symposium sur les substances naturelles d'intérêt biologique de la région Pacifique-Asie, Nouméa, Nouvelle-Calédonie, Orstom, 58.
- Kojis B.L., Quinn N.J. (1981).** Aspects of sexual reproduction and larval development in the shallow water hermatypic coral, *Goniastrea australensis* (Edwards and Haime, 1857). *Bull. Mar. Sci.*, 31: 558-573.



**Kojis B.L., Quinn N.J. (1981).** Reproductive strategie in four species of Porites (scleractinia). Proc. 4th. Int. Coral Reef Symp., Manila, Vol. 2: 145-151.

**Kojis B.L., Quinn N.J. (1985).** Puberty in *Gonistrea favulus* age or size limited? Proc. 5th. Int. Coral Reef Cong., Tahiti, Vol. 4: 289-293.

**Lewis J.B. (1974).** The settlement behavior of the planulae larvae of the hermatypic coral *Favia fragum* (Esper). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 15: 165-172.

**Lewis J.B. (1981).** Coral reef ecosystems, in: Analysis of marine ecosystems, Acad. Press.

**Loya Y. (1976 b).** Settlement, mortality and recruitment of a Red Sea scleractinian coral population. In: Mackie G.O., (ed) Coelenterate ecology and behavior. Plenum Press, New-york: 89-100.

**Oldeman R.A.A. (1974).** Architecture de la forêt Guyanaise. ORSTOM, Paris, Mem. n°73: 204pp.

**Peloux Y. (1960).** Etude histologique des coraux fluorescents de profondeur - note préliminaire. C.R. Académie des Sciences, Paris, vol. 50, 1129-1130, février 1960.

**Richmond R.H. (1987).** Energetics, competency and long dispersal of planula larvae of the coral *Pocillopora damicornis*. Mar. Biol. 93: 527-533.

**Szmant-Froelich A. (1985).** The effect of colony size on the reproductive ability of the Caribbean coral *Montastrea annularis*. Proc. 5th Int. Coral Reef Cong., Tahiti, Vol. 4: 295-300.

**Veron J.E.N., Pichon M. (1980).** Scleractinian of Eastern Australia, part 3. Families Agariciidae, Siderastreaeidae, Fungiidae, Oculinidae, Merulinidae, Mussidae, Pectinidae, Caryophylliidae, Dendrophylliidae. A.I.M.S. Monogr. Ser., 4: 433 pp.

## IV - La solution de l'association symbiotique

### A. Competition between inoculated and indigenous *Frankia* populations for nodulation on *Alnus glutinosa*

#### *Hahn Dittmar & Suntornvongsagul Kallaya*

Actinorhizal plants are characterized by their ability to form root nodules in symbiosis with the nitrogen-fixing actinomycete *Frankia* which enables them to grow on sites with restricted nitrogen availability [2]. Today, nodule formation on woody plants has been demonstrated for more than 200 species distributed over 25 genera of angiosperms including *Alnus*, *Hippophaë*, *Myrica*, *Ceanothus* and *Casuarina* [2, 6]. Actinorhizal plants represent successful pioneer plants frequently coming up after flooding, fires, landslides, glacial activity, as well as volcanic eruptions [11]. They grow on soils with a wide range of properties [11, 12]. They physically enhance the stability of these soils with their well-developed root system [20] and increase nitrogen mineralization rates in soil thereby enhancing nitrogen availability and thus improving the quality of impoverished soils. Economically, actinorhizal plants are therefore useful for reforestation and reclamation of depauperate, nitrogen-limiting soils. In temperate regions, *Alnus* species (Figure 1) have the highest potential for use in forestry, for example, as nurse trees in mixed plantations with valuable tree species, for production of fuelwood and as a source of timber in monocultures [8, 9, 13, 14].



Figure 1: *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn

A successful establishment of actinorhizal plants depends on many site factors, such as the soil pH [7, 15], the soil matric potential [10, 30], and the availability of elements such as nitrogen ([21, 33] or phosphorus [26, 35]). Other factors are the sources of genotypes of both partners of this symbiosis [18, 25]. An improvement of the symbiosis for economic purposes therefore requires the selection of optimal growth sites, but also an optimal combination of plants of interest, e.g. forest ecotypes of *Alnus glutinosa*, and superior genotypes of *Frankia* as inoculum [18, 19, 34]. To find suitable inoculum strains of *Frankia*, criteria such as nitrogen-fixing capacity and compatibility of *Frankia* in combination with the ability of introduced strains to form nodules promptly, to persist in the particular soil and to compete with indigenous *Frankia* strains must be considered. Efficient inoculation programs with *Frankia* strains on alders therefore require basic knowledge on the ecology of *Frankia*.

Up to now, however, studies on competitive abilities of introduced or even on the ecology of natural populations of *Frankia* have been limited by problems encountered with its isolation and identification [5, 31]. In the presence of other bacteria it is virtually impossible to obtain *Frankia* in pure culture, and only one successful attempt to isolate *Frankia* from soil has been reported [4]. *Frankia* is usually isolated from root nodules, a natural locale of enrichment for this organism.

Different isolation procedures have successfully been used during the last 20 years and hundreds of isolates are available [31]. However, even for *Frankia* strains in root nodules, no general isolation protocols have been developed and consequently only a small percentage of isolation attempts succeed.

In recent years isolation-dependent detection methods have increasingly been supplemented or replaced with molecular methods, which are powerful tools to analyze *Frankia* populations directly in their habitat [1, 17, 22]. Molecular methods target sequences of macromolecules (DNA, mRNA or rRNA), that characterize organisms and their potential metabolic activities, rather than the organisms themselves. These methods therefore allow researchers to study microbial communities unaffected by the limitations of culturability and to get an indication of their *in situ* abundance and activity (see [3] for review).



Figure 2: Typical root nodule on *A. glutinosa*

The most prominent advancement in studies on the ecology of *Frankia* has resulted from the use of the polymerase chain reaction (PCR) that enabled researchers to amplify minute quantities of target sequences on DNA and to rapidly retrieve sequence information from uncultured organisms in the environment [32].

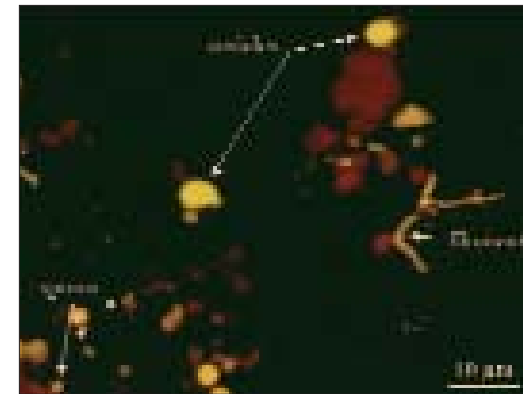


Figure 3 *In situ* detection of distinctive morphological characteristics of frankiae in root nodule homogenates (filaments, non-motile spores, and vesicles, the principle locus of nitrogenase, and thus of nitrogen-fixation)

The potential of this technique was initially exploited for the phylogenetic analysis of isolates and uncultured endophytes in nodules but has also been used for the detection and analysis of specific *Frankia* populations in nodules and soil as specific sequence information became available [27, 29]. Further studies have been based on hybridization assays such as the *in situ* hybridization technique that focused on the microscopic detection of labeled probes hybridized to target sequences in fixed cells of frankiae at different taxonomic levels [16, 36, 37]. This method avoids the *in vitro* amplification of the target sequences because naturally amplified molecules like ribosomal RNAs are used as targets.

*In situ* hybridization with probes targeting group-specific sequences on an actinomycetes-specific insertion in Domain III of the 23S rRNA was recently used to study the competitive ability for nodulation of *Alnus glutinosa* plants by *Frankia* strains of the *Alnus* host infection groups I, IIIa, and IV inoculated into soil with indigenous *Frankia* populations. Since high  $N_2$ -fixing activities of *Frankia* populations in root nodules on *A. glutinosa* improve growth performance of the host plant, the establishment of active, nodule-forming populations of *Frankia* in soil is desired. The analysis showed that by inoculation *Frankia* populations could be established in root nodules under conditions that did not favor vesicle formation in nodules formed by the indigenous *Frankia* population. As a consequence it was concluded that inoculation even in soils with high nitrogen content might therefore be an appropriate strategy to enhance plant growth [23]. *In situ* hybridization also indicated that introduced strains could persist in soil and remain infective and competitive even in the absence of their original host plant [24]. *Frankia* strains were inoculated into soil already harboring indigenous populations of

these infection groups. Parts of the inoculated soil were amended with leaf-litter of *A. glutinosa* and kept without host plants for several weeks until they were spiked with  $^{15}\text{N-NO}_3$  and planted with seedlings of *A. glutinosa*. After four months of growth, plants were analyzed for growth performance, for nodule formation, for specific *Frankia* populations in root nodules and for  $\text{N}_2$ -fixation rates.

Table 1 Growth characteristics of *Alnus glutinosa* seedlings grown in soils with or without leaf litter amendment before planting [24]

Plant characteristics	Non-inoculated		Inoculated*	
	Non-amended	Amended**	Non-amended	Amended**
Plant height (cm)	26 ± 7	36 ± 10	30 ± 9	38 ± 7
Plant weight (g[dry wt.])	2.9 ± 1.3	4.3 ± 1.7	4.1 ± 2.5	5.6 ± 1.6
Amount of fixed nitrogen in plants (%)	33 ± 19	58 ± 25	53 ± 34	78 ± 24
<i>Frankia</i> populations in root nodules				
Group IIIa (probe 23Arl3)	93 ± 16	0	32 ± 23	8 ± 6
Group IV (probe 23Mut15)	0	89 ± 12	51 ± 20	81 ± 11
Group I (probe 23AgB1.9)	0	0	0	0
Lobes without frankiae	7 ± 16	11 ± 12	17 ± 14	11 ± 13

\* inoculated with representatives of group IIIa (*Frankia* strain Ar13), IV (*Frankia* strain Ag45/Mut15) and I (*Frankia* strain AgB1.9) 6 weeks before planting at a density of each approx.  $10^7$  cells [g soil] $^{-1}$

\*\* leaf litter amendment (1%) 6 weeks before planting

Results revealed that introduced *Frankia* strains incubated in soil for several weeks in the absence of plants remained infective and competitive for nodulation with the indigenous *Frankia* populations on the host plant. Inoculation into and incubation in soil without host plants generally supported subsequent plant growth performance and increased the percentage of nitrogen acquired by the host plants through  $\text{N}_2$ -fixation from 33% on non-inoculated soils to 78% on inoculated soils. Introduced *Frankia* strains representing *Alnus* host infection group IIIa and IV competed with indigenous *Frankia* populations, whereas frankiae of group I were not found in any nodules. When grown in non-inoculated, non-amended soil, *A. glutinosa* plants only harbored *Frankia* populations of group IIIa in root nodules. This group was reduced to  $32 \pm 23\%$  of the *Frankia* nodule populations when plants were grown in inoculated, non-amended soil. Under these conditions, the introduced *Frankia* strain of group IV was established in  $51 \pm 20\%$  of the nodules. Leaf-litter amendment during the initial incubation in soil without plants promoted nodulation by frankiae of group IV in both inoculated and non-inoculated treatments. Grown in inoculated, amended soils, plants had significantly lower numbers of nodules infected by group IIIa ( $8 \pm 6\%$ ) than by group IV ( $81 \pm 11\%$ ). On plants grown in non-inoculated, amended soil the original *Frankia* root nodule population represented by group IIIa of the non-inoculated, non-amended soil was entirely exchanged by a *Frankia* population belonging to group IV. The quantification of  $\text{N}_2$ -fixation rates by  $^{15}\text{N}$ -dilution revealed that both the indigenous as well as the inoculated *Frankia* populations of group IV had a higher specific

$\text{N}_2$ -fixing capacity than populations belonging to group IIIa under the conditions applied. These results show that through inoculation or leaf-litter amendment *Frankia* populations with high specific  $\text{N}_2$ -fixing capacities can be established in soils. These populations remain infective on their host plants, successfully compete for nodule formation with other indigenous or inoculated *Frankia* populations and thereby increase plant growth performance.

## References

- Akkermans, A.D.L., Hahn, D., Mirza, M.S. (1991).** Molecular ecology of *Frankia*: Advantages and disadvantages of the use of DNA probes. *Plant Soil* 137, 49-54.
- Akkermans, A.D.L., Hahn, D., Baker, D.D. (1992).** The family Frankiaceae. *In* The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications. A. Balows et al. (Eds), Springer-Verlag: Heidelberg, Germany, p. 1069-1084.
- Amann, R.I., Ludwig, W., Schleifer, K.H. (1995).** Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* 59(1), 143-169.
- Baker, D., D. O'Keefe (1984).** A modified sucrose fractionation procedure for the isolation of frankiae from actinorhizal root nodules and soil samples. *Plant Soil* 78(1-2), 23-28.
- Benson, D.R., Silvester, W.B. (1993).** Biology of *Frankia* strains, actinomycete symbionts of actinorhizal plants. *Microbiol. Rev.* 57(2), 293-319.
- Bond, G. (1983).** Taxonomy and distribution of non-legume nitrogen-fixing systems. *In* Biological nitrogen fixation in forest ecosystems: foundations and applications. G.C. Gordon, C.T. Wheeler (Eds), Nijhoff/Junk Publishers, The Hague, The Netherlands, p. 55-87.
- Crannell, W.K., Tanaka, Y., Myrold, D.D. (1994).** Calcium and pH interaction on root nodulation of nursery-grown red alder (*Alnus rubra* Bong.) seedlings by *Frankia*. *Soil Biol. Biochem.* 26(5), 607-614.
- Dawson, J.O. (1983).** Dinitrogen fixation in forest ecosystems. *Can. J. Microbiol.* 29, 979-992.
- Dawson, J.O., (1986).** Actinorhizal plants: their use in forestry and agriculture. *Outlook on Agriculture*, 15(4): p. 202-208.
- Dawson, J.O., Kowalski, D.G., Dart, P.J. (1989).** Variation with soil depth, topographic position and host species in the capacity of soils from an Australian locale to nodulate *Casuarina* and *Allocasuarina* seedlings. *Plant Soil* 118(1-2), 1-11.
- Dawson, J.O. (1990).** Interactions among actinorhizal and associated species. *In* The biology of *Frankia* and actinorhizal plants. C.R. Schwintzer, J.D. Tjepkema (Eds), Academic Press, London, UK, p. 299-316.
- Dixon, R.O.D., Wheeler, C.T. (1983).** Biochemical, physiological and environmental aspects of symbiotic nitrogen fixation. *In* Biological nitrogen fixation in forest ecosystems: Foundations and applications. J.C. Gordon, C.T. Wheeler (Eds), Nijhoff/Junk, The Hague, The Netherlands, p. 107-171.

- 13. Gordon, J.C., Dawson, J.O. (1979).** Potential uses of nitrogen-fixing trees and shrubs in commercial forestry. *Bot. Gaz.* 140 (Suppl.), S88-S90.
- 14. Gordon, J.C. (1983).** Silvicultural systems and biological nitrogen fixation. In *Biological nitrogen fixation in forest ecosystems: foundations and applications*. J.C. Gordon, C.T. Wheeler (Eds), Nijhoff/Junk Publishers, The Hague, The Netherlands, p. 1-6.
- 15. Griffiths, A.P., McCormick, L.H. (1984).** Effects of soil acidity on nodulation of *Alnus glutinosa* and viability of *Frankia*. *Plant Soil* 79(3), 429-434.
- 16. Hahn, D., Zepp, K., Zeyer, J. (1997).** Whole cell hybridization as a tool to study *Frankia* populations in root nodules. *Physiol. Plant.* 99(4), 696-706.
- 17. Hahn, D., Nickel, A., Dawson, J. (1999).** Assessing *Frankia* populations in plants and soil using molecular methods. *FEMS Microbiol. Ecol.* 29, 215-227.
- 18. Hall, R.B., et al., (1979).** Toward development of optimal *Alnus glutinosa* symbiosis. *Bot. Gaz.* 140 (Suppl.), S120-126.
- 19. Hilger, A.B., Tanaka, Y., Myrold, D.D. (1991).** Inoculation of fumigated nursery soil increases nodulation and yield of bare-root red alder (*Alnus rubra* Bong.). *New Forests* 5(1), 35-42.
- 20. Knowlton, S., Dawson, J.O. (1983).** Effects of *Pseudomonas cepacia* and cultural factors on the nodulation of *Alnus rubra* roots by *Frankia*. *Can. J. Bot.* 61(11), 2877-2882.
- 21. Kohls, S.J., Baker, D.D. (1989).** Effects of substrate nitrate concentration on symbiotic nodule formation in actinorhizal plants. *Plant Soil* 118(1-2), 171-179.
- 22. Mullin, B.C., Dobritsa, S.V. (1996).** Molecular analysis of actinorhizal symbiotic system: Progress to date. *Plant Soil* 186(1), 9-20.
- 23. Nickel, A., et al., (1999).** In situ analysis of introduced *Frankia* populations in root nodules of *Alnus glutinosa* grown under different water availability. *Can. J. Bot.* 77(9), 1231-1238.
- 24. Nickel, A., et al., (2001).** Effect of inoculation and leaf litter amendment on establishment of nodule-forming *Frankia* populations in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(6), 2603-9.
- 25. Prat, D. (1989).** Effects of some pure and mixed *Frankia* strains on seedling growth in different *Alnus* species. *Plant Soil* 113(1), 31-38.
- 26. Sanginga, N., Danso, S.K.A., Bowen, G.D. (1989).** Nodulation and growth response of *Allocauarina* and *Casuarina* species to phosphorus fertilization. *Plant Soil* 118(1-2), 125-132.
- 27. Simonet, P., et al., (1990).** Identification of *Frankia* strains in nodules by hybridization of polymerase chain reaction products with strain-specific oligonucleotide probes. *Arch. Microbiol.* 153(3), 235-240.
- 28. Simonet, P., et al., (1991).** *Frankia* genus-specific characterization by polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 57(11), 3278-3286.
- 29. Simonet, P., et al., (1994).** Molecular characterization of *Frankia* microsymbionts from spore-positive and spore-negative nodules in a natural alder stand. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 1335-1341.
- 30. Schwintzer, C.R. (1985).** Effect of spring flooding on endophyte differentiation, nitrogenase activity, root growth and shoot growth in *Myrica gale*. *Plant Soil* 87(1), 109-124.
- 31. Schwintzer, C.R.; Tjepkema, J.D. (1990).** The biology of *Frankia* and actinorhizal plants. San Diego, Academic Press.
- 32. Steffan, R.J., Atlas, R.M. (1991).** Polymerase chain reaction: Applications in environmental microbiology. *Annu. Rev. Microbiol.* 45, 137-161.
- 33. Thomas, K.A., Berry, A.M. (1989).** Effects of continuous nitrogen application and nitrogen preconditioning on nodulation and growth of *Ceanothus griseus* var. *horizontalis*. *Plant Soil* 118(1-2), 181-187.
- 34. Wheeler, C.T., et al., (1991).** The effect of inoculation with either cultured *Frankia* or crushed nodules on nodulation and growth of *Alnus rubra* and *Alnus glutinosa* seedlings in forest nurseries. *Forest Ecol. Manag.* 43(1-2), 153-166.
- 35. Yang, Y. (1995).** The effect of phosphorus on nodule formation and function in the *Casuarina-Frankia* symbiosis. *Plant Soil* 176(1), 161-169.
- 36. Zepp, K., Hahn, D., Zeyer, J. (1997).** Evaluation of a 23S rRNA insertion as target for the analysis of uncultured *Frankia* populations in root nodules of alders by whole cell hybridization. *System. Appl. Microbiol.* 20(1), 124-132.
- 37. Zepp, K., Hahn, D., Zeyer, J. (1997).** *In-situ* analysis of introduced and indigenous *Frankia* populations in soil and root nodules obtained on *Alnus glutinosa*. *Soil Biol. Biochem.* 29(9/10), 1595-1600.

## B. Ecosystèmes à base chimiosynthétique

### *Fiala-Médioni Aline*

En 1977, en zone oligotrophe à 2600m de profondeur sur la rive des Galápagos, des communautés animales exubérantes sont observées associées à des sources hydrothermales chaudes. Cette découverte a rapidement débouché **sur le concept nouveau d'écosystèmes à base chimiosynthétique** et fait apparaître **un nouveau schéma de chaîne trophique**, différent du seul connu jusque là et basé sur la photosynthèse.

L'exploration systématique des zones bathyales et abyssales a permis de montrer que ces écosystèmes à base chimiosynthétique pouvaient se développer dans des zones géologiques très variées dont le seul point commun est **la présence de fluides riches en composés réduits**, (majoritairement hydrogène sulfuré ( $H_2S$ ), méthane ( $CH_4$ ) ou hydrocarbures) **pouvant servir de source d'énergie pour une production primaire de type bactérienne**.

En quelques années, l'étude de ces écosystèmes a remis en cause nos connaissances dans de nombreux domaines fondamentaux: histoire biologique des océans, adaptations aux milieux extrêmes et limites de la vie, mécanismes de production de matière organique et flux de matière dans l'océan profond. Elle a ouvert des perspectives nouvelles dans de nombreux domaines: écologie, physiologie, microbiologie fondamentale et appliquée. Le potentiel d'exploitation de ces zones est actuellement en évaluation et les biotechnologies en plein développement.

### **\* Différents types de biotopes et de peuplements**

Des peuplements de physionomie différente ont été découverts essentiellement dans 2 types de biotopes, associés d'une part, à des fluides chauds (jusqu'à 450°C: **hydrothermalisme**) et, d'autre part à des rejets de fluides froids (**suintements froids**). D'autres environnements présentant un contexte de « sulfuretum » ont été également décrits avec des associations diverses mais moins spectaculaires (sédiments réduits dans les zones d'herbiers, de mangroves, squelettes de baleines, bois coulés...).

Remarquables par la taille importante des espèces sessiles, les communautés exubérantes des sources hydrothermales et de certains suintements froids sont probablement les populations les plus denses jamais rencontrées à la surface de la terre (biomasse entre 10 et 100 kgs.m<sup>2</sup>). Le plus grand champ de clams observé (fosses du Pérou) a une surface de 1000 m<sup>2</sup> et des colonies contenant jusqu'à 1000 individus.m<sup>2</sup>.

**Malgré une faible diversité, la faune de ces environnements comprend un très grand nombre d'espèces nouvelles** parmi les 443 connues actuellement et dont **beaucoup d'entre elles sont endémiques. Plusieurs taxa ont un caractère**

**primitif** indiquant que la divergence évolutive de la plupart des espèces de ces assemblages s'est produite au cours du Mésozoïque.

Les peuplements hydrothermaux ont généralement une répartition spatiale limitée, ne s'étendant guère sur plus de quelques dizaines de mètres carrés autour de la même source. Par contre, plusieurs cheminées ou émissions peuvent être associées dans un même champ hydrothermal. Les peuplements de suintements froids peuvent s'étendre sur de vastes champs sédimentaires dans les zones abyssales. Une autre différence est peut-être liée à l'instabilité temporelle des peuplements hydrothermaux. Les émissions hydrothermales ne resteraient actives que 20 à 100 ans; par ailleurs, du fait des mouvements d'accrétion et des événements tectoniques (qui modifient les trajets des fluides), les conditions du milieu peuvent varier de manière drastique sur des périodes allant de la seconde au mois. Les peuplements de suintements froids seraient eux beaucoup plus stables et évolueraient plus lentement dans le temps.

### Sites et peuplements hydrothermaux

Depuis la découverte des peuplements des Galápagos, les nombreuses explorations en submersibles ont démontré la colonisation systématique, par des communautés chimiosynthétiques, des dorsales océaniques entre 800 et 3000 m, qu'elles soient à expansion rapide (Dorsales Pacifique, Juan da Fuca, Explorer, Gorda) ou lente (Dorsale Atlantique). D'autres contextes hydrothermaux : bassins arrière-arcs (Lau, Fidji, Manus, Mariannes) « seamounts » (Loihi) ou bassins sédimentaires (Guaymas) présentent des faunes comparables à celles des dorsales. Les organismes observés sur le site des Galápagos sont caractéristiques, en fait, de tous les peuplements de la Dorsale Pacifique et des Dorsales de Juan da Fuca, Explorer et Gorda. Le peuplement « type » de ces zones comprend :

- \* des **bactéries chimioautotrophes** qui occupent la base de toute la chaîne alimentaire et vivent soit libres, soit en matras sur les substrats durs (bactéries filamenteuses) soit en symbiose avec des invertébrés.
- \* un **Vestimentifère**, *Riftia pachyptila*, ver géant vivant dans un tube
- \* des **Mollusques bivalves**: *Calyplogena magnifica*, la plus grande espèce connue avec 34 cm de long et *Bathymodiolus thermophilus*, modiole de 18 cm de long, peuvent être très abondants.
- \* un **Mollusque Gastéropode**, *Neomphalus fretterae*, véritable fossile vivant
- \* un **Polychète** *Alvinella pompejana*, ver annelé vivant dans un tube souple et formant des " boules de neige" autour des fumeurs blancs. Espèce de la macrofaune la plus thermophile, elle vit, probablement, à une température moyenne de 40°C tout en supportant ponctuellement (bien à l'abri de son tube) des températures de 60 à 70°C.
- \* des **Crustacés**: la galathée *Munidopsis subsquamosa* est une espèce ubiquiste des grands fonds, mais attirée par le surplus de nourriture elle est particulièrement abondante sur des sites hydrothermaux. Les crabes *Bythograea thermidron* et *Cyanograea praedator* sont, par contre, des espèces endémiques de ces

environnements

- \* des **Poissons** représentés essentiellement par 2 familles : les *Bythitidae*, endémiques des sites et les *Zoarcidae* qui viennent s'y nourrir.

Les peuplements des bassins d'arrière arc (Lau, Fidji, Mariannes, Manus) dans le Pacifique Sud-Ouest, sont caractérisés par une nouvelle famille (*Provannidae*) de grands gastéropodes accompagnés de nouvelles espèces de bivalves *Mytilidae*, de Vestimentifères (*Lamellibrachia*, *Ridgea*), de cirripèdes pédonculés, de crabes Macrouridae et de crevettes *Bresiliidae*. Des Polychètes *Alvinellidae* se retrouvent associés aux basaltes et sur les coquilles de gastéropodes.

Les peuplements de la Dorsale Atlantique sont dominés par les modioles du genre *Bathymodiolus* et des crevettes *Brésiliidae*.

### Sites et peuplements de suintements froids

Des peuplements de composition faunistique voisine, comparables par leur répartition en îlots, ont été signalés également dans des contextes tectoniques différents mais dans un biotope toujours constitué d'une cline entre un pôle chargé en minéraux réduits ( sulfures, hydrocarbures, sources d'énergie ) et un pôle bien oxygéné.

Dans les zones de suintements froids, des fluides pauvres en oxygène mais généralement riches en méthane, diffusent dans les sédiments le long des marges continentales. L'écart de température dans les différents sites est d'inférieur à 2°C dans les zones profondes à 7-8°C dans les sites de la pente de Louisiane (800-1000m). Ces environnements sont, de façon prédominante, sédimentaires et plutôt réduits. On trouve des peuplements denses au niveau des marges actives dans les zones de subduction (Fosses du Japon, du Pérou, du Mexique, de la Barbade, jusqu'à 6000m (limite d'intervention des submersibles), les prismes d'accrétion (au large de l'Oregon ou de la Barbade) ou les volcans de boue Méditerranéens (au sud de la Crête et de la Turquie, dans le delta profond du Nil). Ils caractérisent également certaines zones de marges passives telles les zones de fluides hyper salés de l'escarpement de Floride à 3260 m ou les suintements d'hydrocarbures du Golfe de Mexico à 800m ou de la marge du Congo-Angola.

Le méthane est un gaz produit fréquemment de manière thermogénique dans les sédiments mais qui peut, également, être généré par des processus microbiens (bactéries de type méthanogénique). Les fluides peuvent être enrichis en sulfures dans la partie superficielle des sédiments par la sulfato-réduction microbienne couplée à l'oxydation du méthane. Récemment un consortium bactérien (constitué d'Archae associées à des sulfato-réducteurs), capables de produire l'hydrogène sulfuré indispensable aux organismes hébergeant des bactéries sulfo-oxydantes, a été mis en évidence dans la partie superficielle des sédiments.

Ces assemblages présentent une similarité faunistique avec les zones hydrothermales: les Mollusques bivalves *Mytilidae*, *Vesicomyidae* ou *Solemyidae*, les Vestimentifères (Pogonophores) *Lamellibrachiidae* ou les Polychètes *Polynoidae* commensaux des modioles (*Mytilidae*) sont abondants dans les 2 types d'environnement. On niveau

des genres, les bivalves *Bathymodiolus* et *Calyptogena*, les Vestimentifères *Lamellibrachia* sont très répandus.

Plus récemment, des peuplements à mollusques *Lucinidae*, *Vesicomidae*, *Mytilidae* et *Vestimentifères* (*Lamellibrachia*) ont été observés associés à des volcans de boue ou des lacs de méthane en Méditerranée orientale.

### \* Fonctionnement des Ecosystèmes à base chimiosynthétique

Le fonctionnement des écosystèmes à base chimiosynthétique est conditionné, comme celui de tous les peuplements profonds, par les contraintes liées à l'absence de lumière, les pressions élevées et une pauvreté en apports organiques d'origine photosynthétique. La particularité des biotopes de peuplements à base chimiosynthétique est de présenter, en plus, des concentrations élevées en éléments toxiques tels les sulfures, le CO<sub>2</sub> et les métaux lourds.

Particulièrement dans les écosystèmes hydrothermaux, ces habitats sont caractérisés par une extrême variabilité des conditions physico-chimiques (température, pH, oxygène, sulfures, CO<sub>2</sub>) à l'échelle spatiale et temporelle et ceci même sur de très courtes distances ou périodes.

Si les communautés des zones hydrothermales et des suintements froids représentent des exemples spectaculaires, de telles symbioses ne sont pas limitées à ces écosystèmes profonds et sont largement répandues chez des Mollusques littoraux de sédiments réduits riches en matière organique (*Solemyidae*, *Lucinidae*, *Thyasiridae*, *Mactridae*...).

### Réseaux trophiques

La **richesse** exceptionnelle des peuplements de ces zones s'explique par la présence à la base de la chaîne alimentaire de producteurs primaires **bactériens**. Ces bactéries de type chimiosynthétique ont un schéma métabolique comparable à celui des végétaux ou des algues mais substitue l'énergie chimique à l'énergie lumineuse.

Ces bactéries tirent leur énergie de l'oxydation de composés réduits tels que l'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S) ou le méthane (CH<sub>4</sub>) et utilisent cette énergie pour la chimiosynthèse (incorporation du carbone du CO<sub>2</sub> ou de l'azote sous différentes formes : gazeux, nitrates ou ammoniac) dans des molécules organiques (hydrates de carbonés ou acides aminés).

De formes très variées (coques, bâtonnets ou filamenteuses proches des genres *Beggiatoa* et *Thiothrix*), ces bactéries se développent à des températures comprises entre quelques degrés et 113°C (hyperthermophiles). Elles peuvent être, libres dans les fluides, associées à des particules dans l'eau, former d'épais tapis à la surface des rochers ou du sédiment ou associées symbiotiquement à des invertébrés. Si le métabolisme sulfo-oxydant est le plus répandu, les oxydations anaérobiques et aérobiques du méthane sont aussi très importantes dans les processus chimiosynthétiques des zones de suintements froids riches en méthane.

Un peuplement important d'Archae ultrathermophiles (jusqu'à 10<sup>11</sup> bactéries par ml de fluide) dont les températures optimales de croissance sont supérieures à 80°C (et jusqu'à 113°C) a été mis en évidence dans la partie chaude de la zone de mélange du fluide ; elles représentent la cible majeure des recherches biotechnologiques qui sont orientées vers la recherche d'enzymes thermostables, de nouveaux polysaccharides ou de molécules pharmacologiquement actives).

La production secondaire comprend des mollusques gastéropodes constituant, avec certaines annélides et les crevettes rimicarides (sites de l'Atlantique), un compartiment broyeur; un compartiment de filtreurs représentés par des Annélides *Serpulidae* ou des crustacés cirripèdes (Bassin Pacifique oriental) récupère les particules plus ou moins associées à des bactéries.

Mais le fait le plus remarquable est que 75% à plus de 90% de la biomasse totale de cette production secondaire est composée de taxons associés à des bactéries chimioautotrophes (Eubactéries du groupe des "bactéries photosynthétiques rouges") formant un complexe symbiotique dans lequel les symbiotes sont parfaitement intégrés à l'hôte et indispensables à sa survie.

Une partie de la production secondaire est transférée dans un compartiment tertiaire représenté par les prédateurs. Les Vestimentifères supportent une très forte prédation par les crabes, les poissons et les polychètes polynoides; les jeunes moules sont consommées préférentiellement par les crabes. Des transports non négligeables de production secondaire hydrothermale peuvent être effectués hors du système par des prédateurs n'appartenant pas à la faune hydrothermale tels les céphalopodes, les crabes et les poissons *Macrouridae* qui fréquentent les événements pour de courtes périodes. Les nécrophages participent à la récupération.

### Acquisition de l'énergie

Le ver Vestimentifère, *Riftia pachyptila*, est l'espèce la plus spectaculaire des sites de la Dorsale Pacifique. Cette espèce ne possède ni bouche ni tube digestif et les éléments nutritifs sont prélevés par les filaments branchiaux très vascularisés formant une vaste surface d'échanges. Une forte concentration d'un complexe d'hémoglobines dans les vaisseaux sanguins de chaque filament branchial lui donne sa couleur rouge caractéristique. Le sang peut transporter l'oxygène, les sulfures et le CO<sub>2</sub> aux bactéries localisées dans un organe spécial remplissant la plus grande partie du tronc de l'animal : le trophosome (contenant jusqu'à 3.7 x 10<sup>9</sup> bactéries par gramme de poids frais) très richement vascularisé. L'énergie libérée par l'oxydation des sulfures est utilisée par les symbiotes pour incorporer le CO<sub>2</sub> dans le cycle de Calvin-Benson. Toutes les espèces de Mollusques bivalves présentent une branchie très développée et richement vascularisée associée à une simplification (cas du *Mytilidae*) ou une réduction importante (cas des *Vesicomidae*) des structures liées à la nutrition particulière. Le tube digestif reste, cependant, potentiellement fonctionnel chez la plupart des espèces et en particulier chez la moule.

Un métabolisme de type autotrophe a également été démontré par la mise en

évidence d'enzymes du cycle de Calvin-Benson (notamment la RuBpCase) en liaison avec des populations denses de bactéries endocellulaires de type gram négatif colonisant la presque totalité des cellules branchiales. Ces bactéries, appartenant à des Protéobactéries de type gamma ont de 0.3 à 5µm de diamètre et sont regroupées à l'intérieur de vacuoles. Bien intégrées dans les tissus branchiaux elles s'y reproduisent normalement.

Chez la moule, les bactériocytes sont baignés par le flux d'eau inhalant créé par le battement ciliaire et, d'autre part, en contact étroit avec les sinus sanguins du filament branchial par leur base ; ainsi, l'épithélium branchial a un accès aussi bien au milieu interne qu'au milieu externe. Les sulfures, le gaz carbonique et l'oxygène pénètrent au niveau de la branchie .

Tous les Vesicomidae (*Calyptogena*, *Vesicomya*) et certains *Mytilidae* tels *Bathymodiolus thermophilus* (Dorsale Est Pacifique) *B. brevior* ou *B. elongatus* (Bassins arrière-arcs de Lau et des Fidji) ont des symbiotes de type sulfo-oxidants. Chez les moules *B. heckeri* (suintements froids de l'escarpement de Floride) et *B. childressi* du Golfe du Mexique au large de la Louisiane) présentent des symbiotes méthanotrophes de type I. Les moules des environnements hydrothermaux telles *B. puteoserpentis* et *B. azoricus* (Dorsale Atlantique) ou de suintement froids (*B. sp* du prisme d'accrétion de la Barbade) possèdent les 2 types de symbiotes, ce qui leur permet de coloniser aussi bien les milieux riches en sulfures que ceux où le méthane est abondant. Cette aptitude se traduit par une flexibilité écologique plus grande et sans doute une meilleure compétitivité.

Localisés dans les bassins arrière-arcs et les sources hydrothermales de l'Océan Indien, les gastéropodes *Provannidae* survivent également grâce à des bactéries symbiotiques ; si le type sulfo-oxidant est largement majoritaire dans les tissus, les méthodes moléculaires ont détecté des symbiotes de type méthanotrophe mais beaucoup moins abondants.

Des symbioses extra-cellulaires sont aussi présentes chez les Polychètes *Alvellinidae* et les crevettes *Bresiliidae*; leur rôle (nutritionnel et-ou protecteur dans la détoxification des sulfures) n'est pas totalement éclairci.

## Résistance à la toxicité

Pour résister aux fortes concentrations en sulfures, le ver *Riftia* dispose d'un complexe d'hémoglobines dissout dans le sang qui fixe l'oxygène et les sulfures sur des sites moléculaires différents, évitant ainsi l'oxydation spontanée des sulfures tout en les transportant sous une forme prévenant l'empoisonnement de la cytochrome-c-oxydase. Chez les *Calyptogena*, les sulfures sont absorbés par le pied et amenés aux symbiotes par le courant sanguin, contenant un facteur coaptant et de la thiotaurine, alors que le gaz carbonique et l'oxygène sont distribués directement à la branchie par le courant d'eau respiratoire.

Chez ces espèces de *Mytilidae*, n'ayant ni hémoglobine, ni protéine de transport, un acide aminé soufré (thiotaurine) assurerait le transport des sulfures sans toxicité pour l'hôte. S'il existe de nombreuses données sur la bioaccumulation de métaux par des

mollusques littoraux, particulièrement dans les zones soumises à forts rejets anthropogéniques, il y a peu de résultats sur les espèces hydrothermales qui sont pourtant soumises en permanence à des cocktails de métaux lourds extrêmement toxiques. Les premières données suggèrent que des métaux, essentiels ou non, se trouvent sous des formes biologiquement disponibles pour l'ensemble des espèces des milieux hydrothermaux. Les résultats montrent également que plus le milieu est riche en éléments métalliques et plus les concentrations tissulaires sont importantes. L'ensemble des données confirme que **les espèces hydrothermales ont développé plusieurs stratégies adaptatives pour stocker, immobiliser ou réguler les éléments métalliques apportés sous forme particulière ou dissoute par l'activité hydrothermale.**

## \* Les sources hydrothermales: berceau de la vie?

Une hypothèse américaine a relancé le débat sur l'origine de la vie : elle propose que la vie ait pu naître dans des environnements hydrothermaux qui existaient, il y a plus de 4 milliards d'années. A l'appui de cette hypothèse : les conditions comparables à celles de la terre primitive au moment de l'émergence de vie mais également la présence de tous les éléments nécessaires, eau liquide, monoxyde de carbone, sulfure d'hydrogène, cobalt, nickel et ammoniac, le tout à la surface d'un catalyseur solide constitué de sulfure de fer.

Récemment des sites hydrothermaux, hors dorsales océaniques, formés de dépôts carbonatés et avec un fluide très alcalin et relativement froid (40 à 75°C) ont été décrits en Atlantique (Lost City). De tels sites seraient plus compatibles avec l'hypothèse « du monde à ARN » selon laquelle les organismes à ARN auraient précédé ceux à ADN. Cette hypothèse implique, en effet, que l'environnement ait été riche en phosphates et pas trop chaud.

La découverte des environnements hydrothermaux aura permis de relancer l'intérêt pour des études de chimie pré-biotique initiées au début du siècle par Oparine et Miller et abandonnées vers 1960. Des travaux expérimentaux, prenant en compte la pression, la température et la présence de sulfures (conditions prédominantes dans les sources hydrothermales) ont permis d'obtenir de nouvelles molécules constituant les briques du vivant et fait avancer le problème. On ne sait toujours pas toutefois, et sans doute pour longtemps, reconstituer « LUCA » l'ancêtre universel de toute cellule.

## Conclusion

La faible diversité spécifique des peuplements à base chimiosynthétique, par rapport à celle des peuplements profonds classiques, indique que peu d'espèces ont été capables de coloniser, de se maintenir et de se perpétuer dans les conditions extrêmes de ces habitats. Les densités, biomasse, et productivités élevées de ces populations suggèrent, par contre, un net avantage pour les espèces capables de s'adapter à un environnement profond et toxique, très pauvre en apports nutritifs.



D'un point de vue général, l'importance de l'hydrothermalisme océanique est maintenant bien démontrée : on sait que les dorsales océaniques représentent un énorme "échangeur" de matière et d'énergie. Les eaux hydrothermales sont sans doute la principale source des métaux et le contenu chimique de l'eau des cheminées aurait une importance déterminante dans le recyclage des éléments et donc dans la composition chimique de l'ensemble des Océans.

Fantastiques champs d'observation et d'expérimentation, ces zones présentent des témoignages d'évènements passés ou présents, déterminants dans le devenir de toute notre planète.

Du point de vue biologique, ces sites représentent la découverte majeure de ces 30 dernières années en océanographie. Ils ont aussi apporté des modèles précieux pour des études de biologie marine, de biologie fondamentale aussi bien que pour les biotechnologies.

Les projets de mise en place d'observatoire dans des zones hydrothermales du Pacifique (Dorsale Juan da Fuca) et de l'Atlantique (zone des Açores) devraient dans l'avenir permettre d'une part des observations à long terme sur les sites (phénomènes physiques, géochimiques, biologiques) et de planifier une expérimentation permettant de quantifier les différents processus; cette quantification permettra d'inclure les différentes variables, physiques, chimiques, biologiques, dans des modèles mathématiques pouvant prédire l'évolution des écosystèmes en fonction des variations de l'environnement.

## Références

- Cavanaugh C.M. (1993).** Methanotroph-Invertebrate Symbioses in the Marine Environment : Ultrastructural, Biochemical and Molecular studies. In: *Microbial growth on C1 compounds*. Intercept Ltd, Andover, UK.
- Childress J.J., Fisher, C.R. (1992).** The biology of Hydrothermal vent animals: Physiology, biochemistry, and autotrophic symbioses. *Oceanogr. Mar.Biol. Ann. Rev.*, 30: 337-444.
- Fiala Médioni A. (1988).** Synthèse sur les adaptations structurales liées à la nutrition des Mollusques bivalves des sources hydrothermales profondes. *Océanol. Acta*, 8: 173-179.
- Fiala-Médioni A., Felbeck, H. (1990).** Autotrophic Processes in Invertebrates Nutrition : Bacterial Symbiosis in Bivalve Molluscs. In: *Animal Nutrition and Transport Processes 1. Nutrition in Wild and Domestic Animals*, Mellinger J. Editor. *Comparative Physiology*, Kinne R.K.H., E. Kinne-Saffran and K.W. Beyenbach, Editors, Basel, Karger, 5, 49-69.
- Fisher C.R. (1990).** Chemoautotrophic and Methanotrophic Symbioses in Marine Invertebrates. *Aquatic Sciences*, 2, issues 3,4, 399-436.
- Fisher C.R. (1995).** Toward an appreciation of hydrothermal-vent animals : Their environment, physiological ecology, and tissue stable isotope values. *Seafloor hydrothermal systems: Physical, Chemical, Biological, and geological Interactions. Geophysical monograph 91*: 297-316.
- Holm N.G., Edt. (1992).** Marine hydrothermal systems and the origin of life,

Reprinted from: *origins of life and Evolution of the Biosphere*, 22(1-4), Kluwer Academic Publishers, 242 p.

**Jannasch, H.W. (1995).** Microbial interactions with hydrothermal fluids. *Seafloor hydrothermal systems: Physical, Chemical, Biological, and geological Interactions. Geophysical monograph 91* : 273-296.

**Kojma, S. (2002).** Deep Sea Chemosynthesis-Based Communities in the Northwestern Pacific. *J. Oceano*, 58 : 343-363.

**Laubier, L. (1989).** Ecosystemes Benthiques profonds et chimiosynthèse bactérienne: Sources Hydrothermales et Suintements froids. *Océanologie Actualité et perspectives*, M. Denis ed. : 61-99.

**Mullineaux, L.S., Scott, S.C. (1995).** Dispersal mechanisms of deep-sea hydrothermal vent fauna. *Seafloor hydrothermal systems: Physical, Chemical, Biological, and geological Interactions. Geophysical monograph 91* : 408-424.

**Nelson, D.C., Fisher, C.R. (1995).** Chemoautotrophic and Methanotrophic endosymbiotic Bacteria at Deep Sea Vents and Seeps. In: *Microbiology of Deep-Sea Hydrothermal Vent Habitats*. D.M. Karl ed.. CRC Press, Boca Raton, FL: 125-166.

**Prieur, D., Eruso, G., Jeanthon, C. (1994).** Hyperthermophilic life at deep-sea hydrothermal vents. *Planetary and Space Science*, 43: 115-122.

**Tunnicliffe, V., Juniper, K., Sibuet, M. (2003).** Reducing environments of the deep sea floor. In : *Ecosystems of the world*, vol 28. *Ecosystems of the deep ocean*. P.A. Tyler, Elsevier, 569p : 81-110.

**Sibuet, M., Olu, K. (1998).** Biogeography, biodiversity and fluid dependence of deep-sea cold-seep communities at active and passive margins. *Deep-Sea Research Part II* 45, 517-567.

**Van Dover, C.L. (2000).** The Ecology of Deep-sea Hydrothermal Vents. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 424 p.

**Von Damm, K.L. (1995).** Controls on the chemistry and temporal variability of seafloor hydrothermal fluids. *Seafloor hydrothermal systems: Physical, Chemical, Biological, and geological Interactions. Geophysical monograph 91* : 222-247.

**Zal, F. (2002).** Les sources hydrothermales, berceau de la vie? *La recherche*, 355: 22-25

## V. Conclusion générale

Nous avons vu que plusieurs composantes climatiques peuvent atteindre des valeurs extrêmes:

Température
pH
Pression
Concentration en sel
Oxygène
Lumière

Les fluctuations de ces éléments créent des conditions de vie extrême en milieu alpin et en milieu marin. Les organismes doivent trouver des solutions adaptées au moyen des extrémozymes (les enzymes de l'extrême) pour résister, en milieu alpin, aux basses températures, au rayonnement UV, à la persistance de la neige et de la glace, aux vents et à la diminution de la pression atmosphérique. En milieu marin abyssal ou polaire, ils doivent affronter les basses températures, le manque de lumière, l'augmentation de la pression, le manque d'oxygène, les modifications du pH et de concentrations en divers éléments.

Mais certains organismes trouvent des avantages à ces conditions. En effet la couche neigeuse peut avoir un rôle protecteur si la couche est assez épaisse pour recouvrir le sol. La neige est un bon isolant thermique : par exemple avec une couche de neige de 20 cm et une température atmosphérique de -30°C, la température à l'interface sol-neige est de 0°C ! Certains végétaux bénéficient de cette protection pendant la période de repos végétatif et même lors de la reprise vernale. Ainsi par exemple, il a été constaté que pour la culture d'espèces de *Veratrum* (*Veratrum album*) dont on extrait la Vératine (alcaloïde qui a une action paralysante des contractions musculaires), les parties souterraines doivent être maintenues à 0°C pendant 6 mois (période végétative 17°C/10°C).

Les végétaux vivant en haute altitude ont trouvé des solutions originales pour résister aux conditions extrêmes. Ainsi par exemple certaines espèces adoptent l'aspect d'un coussinet: les tiges serrées les unes contre les autres, sont réunies en colonies de forme hémisphérique (Fig. 1a – 1b). Cette disposition présente de nombreux avantages:

Vent	Résiste mieux au vent, résistance des unités rassemblées
Humus	Auto fertilisation, formation de humus avec la matière organique
Gel	Unités qui arrivent à floraison
Couleur	Tache colorée, pendant la floraison, visité par les insectes
Eau	Rétention de l'eau, fonction d'éponge
Racine	A « carotte », ancrage au sol et meilleur drainage nourricier

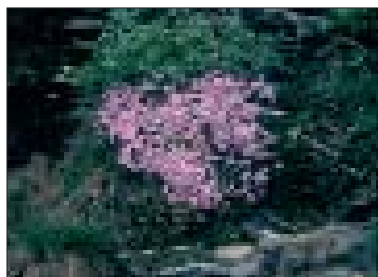


Fig. 1a

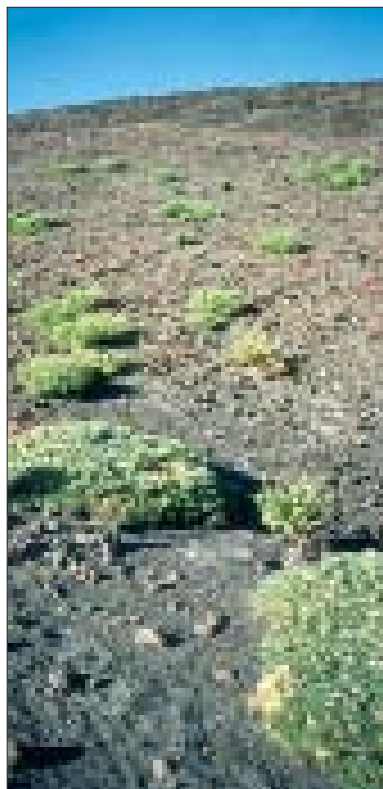


Fig. 1b

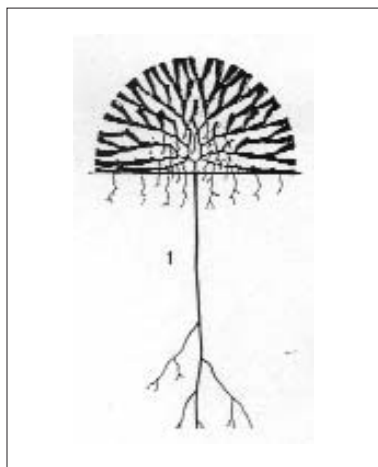


Fig. 1c

Formes pionnières – espèces pionnières:

Fig. 1a e 1b Floraison d'un coussinet d'*Androsace alpina* en Val Piora (Massif du St.Gothard) et coussinets se développant sur le flanc volcanique de l'Etna (Sicile).

Fig. 1c Schéma d'un coussinet, les tiges réunies en colonie se disposent en forme hémisphérique.

Autre caractéristique des organismes extrémophiles, la polyploïdie. En effet, la polyploïdie chez les végétaux est fréquente dans les régions froides montagneuses et circumpolaires.

Les plantes des Alpes présentent une polyploïdie plus importante que celles de la plaine. Le taux de polyploïdie en Algérie est de 38 %, de 50 % en Europe centrale, de 66 % en Islande et de 86 % dans le nord du Groenland. Les espèces polyploïdes peuvent peupler des biotopes qui sont interdits à la forme originelle (diploïde).

Dans l'état actuel de l'évolution, plus de la moitié des espèces sont polyploïdes; ces mutants se rencontrent essentiellement dans les régions froides, montagneuses et

circumpolaires (85% des Graminées des montagnes du Pamir, 80% des Angiospermes du Spitzberg sont des polyploïdes). Il est probable que le froid, en bloquant les mitoses, est le principal agent instaurateur de la polyploïdie. Les mutants polyploïdes, souvent doués d'une marge de tolérance physiologique plus étendue que celle de l'archétype diploïde, supportent mieux les rigueurs climatiques; ils peuvent ainsi peupler des biotopes interdits à la forme originelle.



Formes pionnières - polyploïdie:

Fig. 2 Chez les grassettes (plantes carnivores du genre *Pinguicula*) nous retrouvons le nombre de chromosomes suivant:

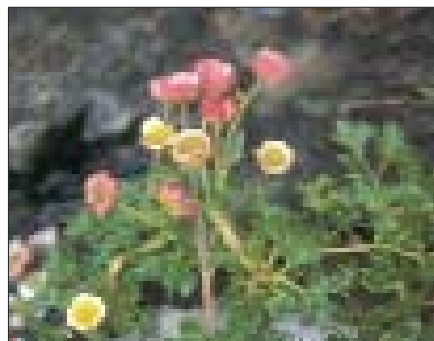
<i>Pinguicula alpina</i>	32 chromosomes
<i>Pinguicula vulgaris</i>	64 chromosomes
<i>Pinguicula corsica</i>	8 chromosomes

La viviparité constitue aussi une réponse aux conditions extrêmes.

En biologie végétale vivipare se dit de plante dont les graines germent sur la plante mère. Lors du raccourcissement par le froid de la période végétative chez l'espèce *Poa alpina*, des embryons se développent souvent dans les épillets, à la place de fleurs. Les plantules ainsi engendrées croissent durant une certaine période sur la plante mère, pour ensuite tomber au sol et s'enraciner. (Fig. 3).



Formes pionnières – viviparité  
Fig. 3 *Poa alpina*, les plantules se développent sur la plante mère.



Formes pionnières – antigel dans la sève  
Fig. 4 *Ranunculus glacialis* est une plante qui résiste aux basses températures grâce à la présence de glycérol et sucres dans la sève.

Les solutions sont aussi physiologiques.

Parmi les végétaux qui résistent au froid il faut citer *Ranunculus glacialis* qui a été signalé jusqu'à une altitude de 4'275 m.s.m. (Finsteraarhorn).

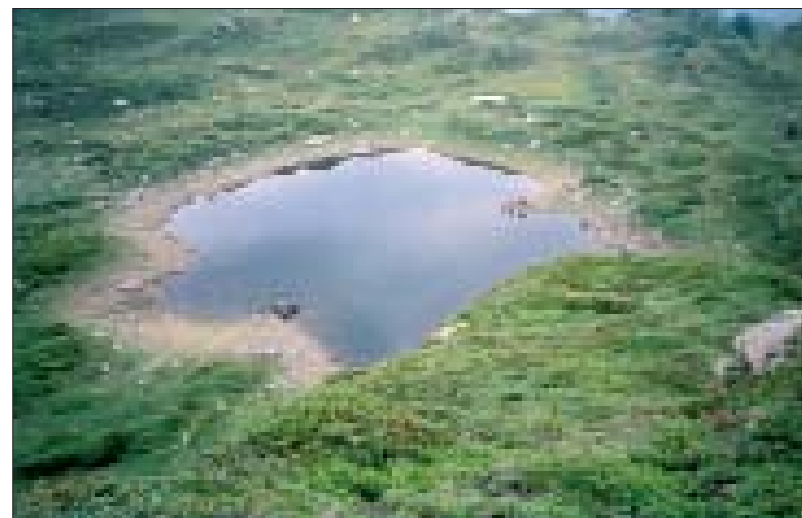
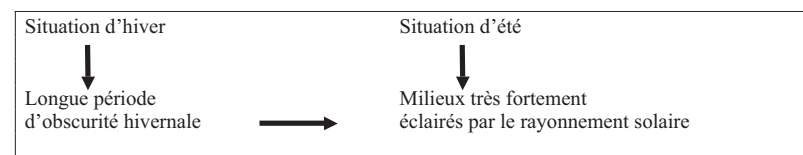
Certains animaux aussi sont armés pour survivre aux températures extrêmes. Chez la plupart des poissons le sang gèle au dessous de  $-1,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Or, certains poissons qui nagent dans les mers polaires doivent affronter des températures très basses. Pourquoi ne gèlent-ils pas? Depuis de nombreuses années les biologistes tentent d'élucider ce mystère. Ils ont découvert que ces vertébrés fabriquent des protéines antigél qui se fixent aux cristaux de glace pour les empêcher de grossir et leur permettent de survivre jusqu'à  $-1,5^{\circ}\text{C}$ .

Des protéines antigél ont aussi été découvertes dans des insectes et en particulier dans le collembole des neiges. Ces protéines sont capables de bloquer la formation de glace dans les fluides biologiques en baissant le point de congélation des fluides d'environ  $6^{\circ}\text{C}$ , ce qui aide les animaux à demeurer actifs pendant l'hiver.

## Quelles sont les répercussions du changement climatique sur ces biotopes fragiles ?

Le réchauffement global de la planète représente une augmentation de la température de  $+1-2^{\circ}\text{C}$ . On sait que depuis une vingtaine d'années le climat de la Suisse a tendance à présenter des extrêmes thermiques et pluviométriques plus marqués. Les conséquences sur les lacs alpins et les lacs de barrage d'altitude sont très importantes.

Dans les lacs alpins la saison est très courte et les chaînes alimentaires sont très pauvres. Le métabolisme est généralement différent de celui des lacs préalpins. Les changements climatiques vont sans doute entraîner des changements physiologiques. En effet, l'augmentation moyenne de la température apporte un temps prolongé de production primaire. En outre plus l'altitude du lac est élevée, plus le plan d'eau est soumis aux ondes courtes, en particulier l'Ultra Violet (UV : 280-320 nm), qui peut pénétrer dans l'eau jusqu'à 20 m de profondeur.



Formes de résistance  
Fig. 5 Le Lac Giubin (2097 m.slm) n'est pas permanent; il subit une disparition estivale et possède des formes planctoniques de résistance dans le sédiment lors de l'assechement.

Dans le milieu marin, les changements climatiques sont plutôt constatés au niveau côtier et au niveau des pôles. Le milieu abyssal est plus tamponné, à l'abri des influences directes des changements climatiques. Cependant, les mouvements océaniques ont une influence importante sur le climat global (Gulf Stream, El-Niño). Mais les mécanismes de l'influence des courants océaniques, de surface et de profondeur, sont encore assez méconnus.

L'océan est le principal régulateur des variations climatiques du fait de sa capacité de stockage d'énergie et d'inertie thermique. Mais les activités humaines ont non seulement transformé la chimie de l'atmosphère, elles ont aussi perturbé les océans.

Une étude récente a montré que l'augmentation des concentrations en CO<sub>2</sub> dans l'atmosphère et donc dans l'océan va entraîner une baisse du pH de l'océan avec des modifications importantes pour les écosystèmes marins. D'autres facteurs, tels le débit et la température sont aussi des facteurs structurants pour le milieu aquatique. Les évolutions du climat ont un impact sur les organismes aquatiques, compte tenu de leurs exigences écologiques: besoins en oxygène, tolérance aux variations de température...

Deux différences majeures distinguent les ressources aquatiques des zones arctiques et celles des zones plus tempérées: une plus faible diversité spécifique et un plus faible niveau de production. La perte d'une seule espèce peut suffire à interrompre la chaîne alimentaire, provoquant des changements radicaux à plusieurs niveaux. On peut citer l'exemple de la quasi disparition des stocks de morue dans les eaux arctiques et canadiennes, dues à des phénomènes climatiques et de surpêche. Au Groenland, les fluctuations des stocks ont été associées à des changements de température et de salinité, et à des modifications de courants marins. En 1992, à Terre Neuve, plus de 40000 personnes ont perdu leur emploi, du fait de la fermeture de la pêche à la morue... et l'écosystème marin n'a toujours pas récupéré. Car ce n'est pas seulement la ressource humaine qui est concernée, mais toutes les espèces de mammifères marins, oiseaux et poissons dont les morues étaient la nourriture.

Ainsi, la vie dans les conditions extrêmes a nécessité des adaptations particulières qui font de ces milieux un écosystème à la fois riche d'enseignements originaux, mais aussi fragile, et il faudra donc apprendre à le préserver.

Au cours de cette Ecole d'Été, différents aspects de l'adaptation des organismes aux conditions extrêmes ont été envisagés. Ils ont montré que les solutions sont parfois communes dans les milieux alpins et marins. Ainsi, certains organismes marins possèdent des « protéines antigel » qui rappellent la présence de glycérol dans les plantes alpines pour résister au gel.

Enfin, la solution de l'association symbiotique entre organismes permet l'adaptation à des conditions particulièrement drastiques en milieu marin (sources hydrothermales) comme en milieu alpin terrestre et lacustre.

Ainsi, en conclusion, il apparaît que l'étude de la vie dans les conditions hostiles est source de solutions innovantes et qu'elle a beaucoup à nous apprendre en tant que réservoir de solutions biologiques originales pour les organismes.



*Effet isolant de la neige :*

*Fig. 6 Val Piora – Lac Ritom et forêt de Pinet. Le versant boisé (Pinet) coïncide avec la couverture de la neige au printemps; la couche neigeuse protège les végétaux des gelées printanières.*

## Liste et adresse des intervenants

Raffaele Peduzzi  
Professeur, Université de Genève  
Faculté des sciences  
Institut Cantonal de Microbiologie  
Via Mirasole 22A  
6500 Bellinzona

Mauro Tonolla  
Collaborateur scientifique  
Université de Genève  
Institut Cantonal de Microbiologie  
Via Mirasole 22A  
6500 Bellinzona

Sandro Peduzzi  
Collaborateur scientifique  
Department of Biological Sciences  
Rutgers University, Newark, NJ, USA  
Actuellement: Institut Cantonal  
de Microbiologie, 6500 Bellinzona

Bachofen Reinhard  
Professeur, Université Zürich  
Institut für Pflanzenbiologie  
Zollikerstrasse 107  
8008 Zürich

Bodiou Jean-Yves  
Maître Conf,  
Observ. Océanologique  
66650 Banyuls-sur-Mer

Hahn Dittmar  
Prof. Rutgers University, Newark, NJ  
Actuellement: Dep. of Biology  
Texas State University  
601 University Drive  
San Marcos, USA

Suntornvongsagul Kallaya  
Collaboratrice scientifique  
Department of Biological Sciences  
Rutgers University  
Newark, NJ, USA

Renata Boucher-Rodoni  
Chargé de Recherche au CNRS  
BOME-MNHN  
55, rue Buffon  
75005 Paris

Pascale Joannot  
Chargé de mission au MNHN  
57, rue Cuvier  
75005 Paris

Bischoff Yannick  
Collaborateur scientifique FNSRS  
Institut für Schnee und  
Lawinenforschung, SLF  
Flüelastrasse 11  
7260 Davos

Fiala-Médioni Aline  
Professeur, Université UPMC  
Observ. Océanologique  
66650 Banyuls-sur-Mer

Demarta Antonella  
Collaboratrice scientifique  
Institut Cantonal de Microbiologie  
Via Mirasole 22A  
6500 Bellinzona

Boucher Guy  
UMR 5178 CNRS  
BOME - DMPA - MNHN  
65, Rue Buffon  
75231 Paris cedex 05