

# Ecologie microbienne des environnements souterrains

## La biosphère souterraine

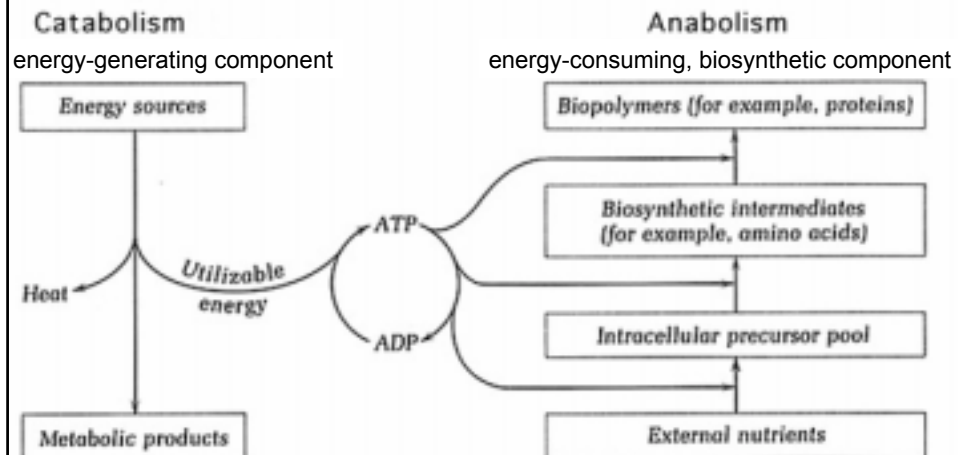
- Eau permet la survie et le développement d'une grande variété de microorganismes
- Habitats varient en fonction de la zone géographique et de la profondeur (biogéographie en 3D)
- La diversité est fonction des nutriments possibles, de la présence d'oxydants et de réducteurs en absence d'oxygène
- Nature et capacités métaboliques des communautés bactérienne de subsurface dépendent de la composition et de la qualité de la matière organique disponible

# Types métaboliques des microorganismes

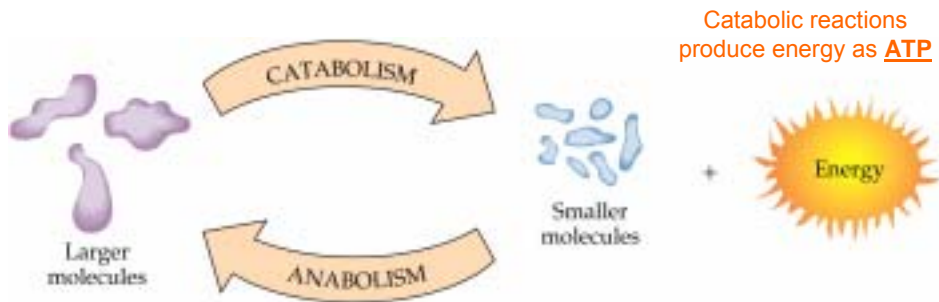
Pour se développer la cellule a besoin de :

- Carbone
- Energie
- Accepteurs d'électrons

## Metabolism: catabolism + anabolism



## Metabolism: catabolism + anabolism



## Types métaboliques des microorganismes

Pour se développer la cellule a besoin de :

- Carbone
- Energie
- Accepteurs d'électrons

# Le carbone

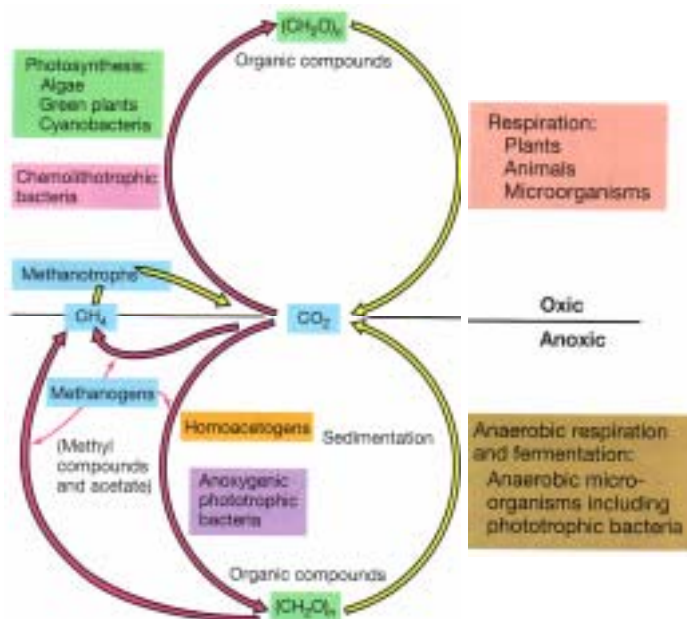
## Formes du C dans la nature:

- Formes réduites:  $\text{CH}_4$
- Formes partiellement réduites: matières organiques
- Formes oxydées:  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$

- **Bactéries autotrophes:**  
 $\text{CO}_2$  comme source unique et principale de carbone (réduit en biomasse)
  - **Bactéries hétérotrophes:**  
 Molécules organiques réduites comme sources de C et d'énergie
- Les microorganismes en interagissant entre eux au cours de leur métabolisme influencent les réactions d'oxydoréduction impliquant le carbone

# Cycle redox cycle du carbone

**Figure 19.23** Redox cycle for carbon; note in particular the contrasts between autotrophic ( $\text{CO}_2 \rightarrow$  organic compounds) and heterotrophic processes. Yellow arrows indicate oxidations; red arrows indicate reductions. Photosynthesis in oxic habitats is mainly oxygenic, whereas in anoxic environments it is mainly anoxygenic from the activities of purple and green bacteria. Under anoxic conditions, besides homoacetogens and methanogens, certain sulfate-reducing and nitrate-reducing bacteria are also autotrophic. Methanogens make methane, whereas methanotrophs consume methane.



## Diversité métabolique

Les organismes sont classifiés sur la base de leurs besoins métaboliques

### – Phototrophe:

- Microorganismes phototrophes anaérobies
- Microorganismes phototrophes aérobies (cyanobactéries)

### – Chimiotrophe:

- Respiration
- Fermentation

### – Lithotrophe: oxydation de composés inorganiques (H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, Fe<sup>2+</sup>,...)

### – Organotrophic: oxydation de composés organiques

## Diversité métabolique

Les organismes sont classifiés sur la base de leurs besoins métaboliques

### 1. Chimiohétérotrophes:

- Source d'énergie: Composés organiques
- Source de carbone: Composés organiques
  - Exemples: majorité des bactéries, tous les protozoaires, les champignons et les animaux

### 2. Chimioautotrophes:

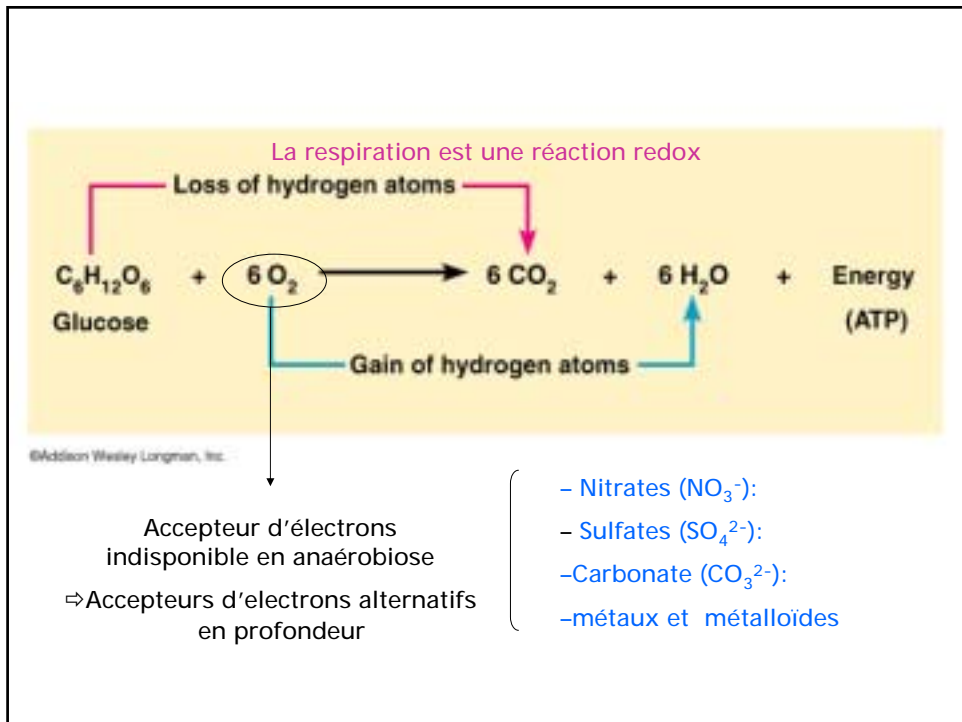
- Source d'énergie: composés inorganiques (H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, S, H<sub>2</sub>, Fe<sup>2+</sup>, etc.)
- Source de carbone: CO<sub>2</sub>.
  - Exemples: bactéries

### 3. Photohétérotrophes:

- Source d'énergie: Lumière
- Source de carbone: Composés organiques
  - Exemples: majorité des bactéries

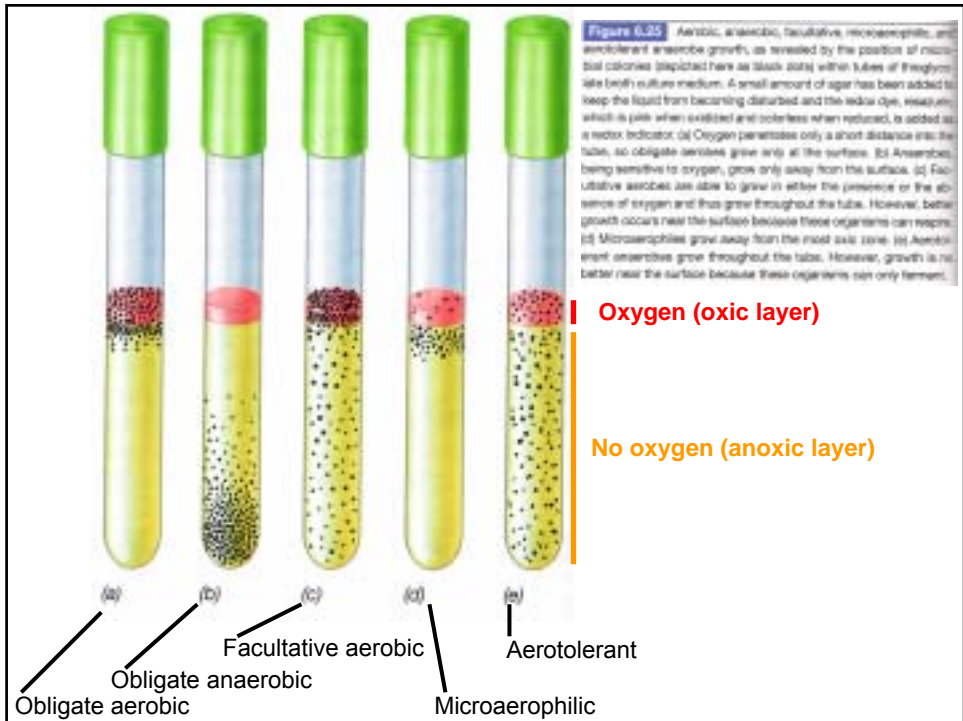
### 4. Photoautotrophes:

- Source d'énergie: : Lumière
- Source de carbone: CO<sub>2</sub>.
  - Exemples : plantes, algues, bactéries photosynthétiques



## Oxygène

- **Aérobie stricte** : ne peuvent vivre et se développer qu'en présence d'oxygène.
- **Anaérobie stricte** : ne peuvent vivre et se développer qu'en l'absence d'oxygène.
- **Anaérobie facultative** : vivent habituellement dans l'air, mais qui peuvent également vivre dans un milieu qui en est dépourvu.
- **Aerotolérant** : peuvent vivre en présence d'O<sub>2</sub> – mais ne l'utilise pas
- **Microaérophile** : l'oxygène est indispensable mais ne se développent que dans des milieux où la pression partielle d'oxygène est nettement inférieure à celle de l'air.



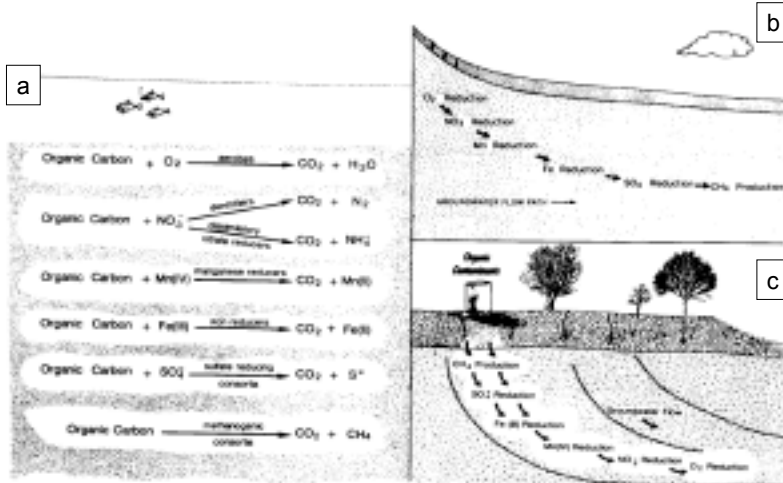
## En conditions oxyques

Dans les systèmes aqueux hébergeant des microorganismes:

- l'oxygène est utilisé pour l'oxydation de la matière organique
- les réductions biologiques s'établissent avec les accepteurs d'électrons comme  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{MnO}_2$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$

## En conditions anoxiques

Dans les environnements anoxiques stables (sédiments marins ou aquifères) la séquence d'utilisation des accepteurs d'électrons s'établit dans le même ordre selon les propriétés thermodynamiques



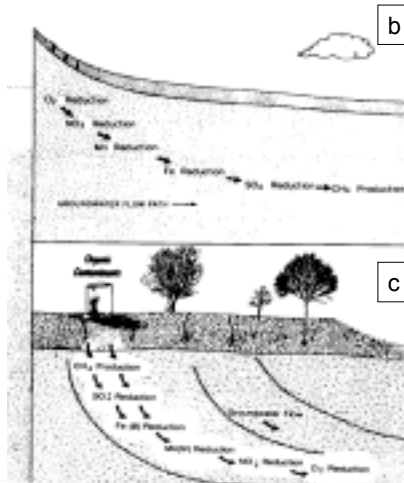
Représentation schématique de la distribution des accepteurs terminaux d'électrons (a: sédiments aquatiques; b: aquifères; c: aquifère contaminé par des composés organiques)

## En conditions anoxiques

Dans les environnements anoxiques stables (sédiments marins ou aquifères) la séquence d'utilisation des accepteurs d'électrons s'établit dans le même ordre selon les propriétés thermodynamiques

### cas d'une contamination

l'apport et la nature des composés organiques modifient la séquence de distributions des accepteurs d'électrons (ceux ayant le meilleur rendement énergétique sont utilisés en premier par les flores pour dégrader la matière organique)



Représentation schématique de la distribution des accepteurs terminaux d'électrons (a: sédiments aquatiques; b: aquifères; c: aquifère contaminé par des composés organiques)



Le recyclage biogéochimique dans un environnement fait intervenir des processus biologiques et des populations bactériennes distincts

## Types métaboliques impliqués dans les transformations biogéochimiques

- Sulfato-réduction
- Méthanogenèse
- Acétogenèse
- Fermentation
- Dénitrification
- Réduction des métaux

# Les bactéries fermentaires

- Fermentation = catabolisme anaérobie  
(production d'ATP par une série de réactions cataboliques où les composés organiques servent de donneurs d'électrons et des intermédiaires également organiques jouent le rôle d'accepteur d'électrons)
- Possibilité de réduire les composés sulfuré (soufre élémentaire, thiosulfate) les ions ferriques ou le nitrate
- Dans le sous sol elle peuvent utiliser la matière organique produite par les bactéries autotrophes comme source de carbone et d'énergie.
- Elles sont hétérotrophes, mésophiles, thermophiles ou hyperthermophiles

## Minéralisation de la matière organique

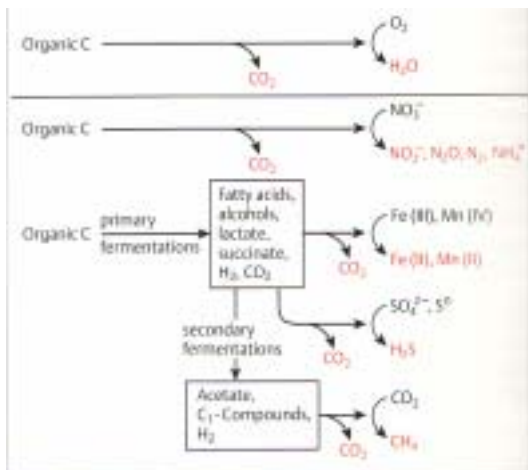


Fig. 30.4 Sequence of redox processes coupled to mineralization of organic matter

Ordre spatial des microorganismes (ex: sédiments lacustres)



Produits réduits de l'oxydation anaérobie peuvent être réoxydés par les lithotrophes

## Les bactéries dénitrifiantes

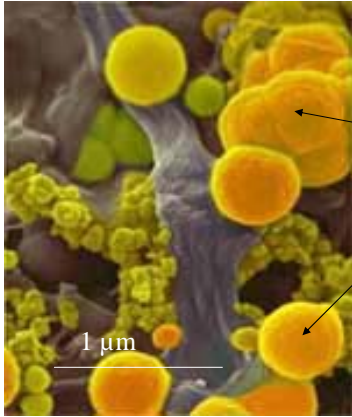
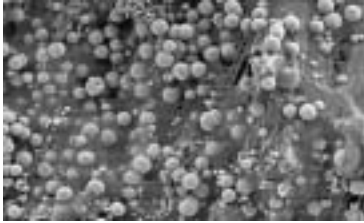
Dans environnements anaérobies deux processus utilisant le nitrate comme accepteur final d'électrons se distinguent :

- la **respiration dénitrifiante** (ou dénitrification):
  - utilisation du nitrate comme oxydant dans la respiration anaérobie
  - production d'azote gazeux ( $N_2$ ), de nitrite ( $NO_2^-$ ) ou d'oxyde nitreux ( $N_2O$ )  
 $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$  (par des reductases)  
*Ces différentes étapes sont impliquées dans la production d'énergie par la synthèse d'ATP.*
  - microorganismes dénitrifiants peuvent être organotrophes, lithotrophes ou phototrophes; les sources de carbone et d'énergie les plus souvent utilisées sont les composés organiques
  - existent dans une grande variété d'habitats (sols, eaux douces, eaux marines, sédiments, systèmes de traitements des déchets)
  - limité par la présence d'oxygène
- la **réduction dissimilatrice** du nitrate en ammonium (ou ammonification du nitrate):  
 $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NH_4^+$  (par des reductases)
  - dans les habitats anaérobies tels que les sédiments et boues anoxiques par des bactéries anaérobies strictes ou facultatives

## Les bactéries réductrices des métaux

- Réduction enzymatique des métaux : processus important dans les environnements anoxiques
- Principaux : **Fe(III)** et **Mn(IV)**
- Mais aussi **U(VI)**, **Se(VI)**, **Cr(VI)**, **Hg(II)**, **Mo(VI)**, **Au(III)**, Cu, Tc, V, Ag  
.....  
(Encore peu étudié)
- A une influence sur les paramètres géochimiques organiques et inorganiques dans les environnement anoxiques tels que les sédiments ou les eaux profondes, gisements pétroliers
- Espèces chimioorganotrophes ou chimiolithotrophes

Mine abandonnée de Richmond , Wisconsin



Nanosphères de sulfures de zinc dans des biofilms

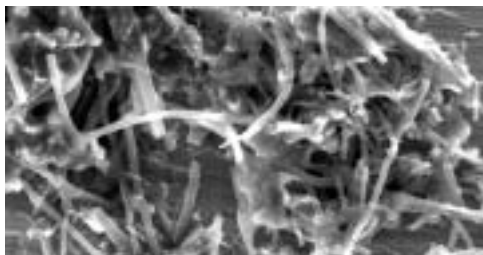
Biofilm rose = communauté de microorganismes qui métabolisent Fe, fixent C et N et produisent de l'acide sulfurique qui dissout la pyrite environnante et charge en métaux les ruisseaux et nappes d'eau



⇒ Microorganismes jouent un rôle clé dans la mobilisation des métaux en subsurface

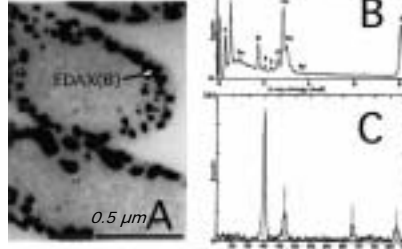
Labrenz, M, and J.F. Banfield, Science, 2000

Rôle des microorganismes dans la genèse des minerais ?



Bacteries (*Leptothrix*, *Gallionella*) recouvertes d'une gangue d'oxyhydroxyde de fer et de silice  
Ferris et Kennedy, Toronto University

Lloyd et al. 1998 AEM



Distribution du Pd(0) bioréduit par *D. Desulfuricans* (sulfato-réductrice)  
Pd(II) = accepteur final d'électrons

Kashefi et al. 2001 AEM



Reduction de l'Au(III) et précipitation d'or par *G. sulfurreducens*. (A) *P. islandicum*; (B) *T. maritima*;

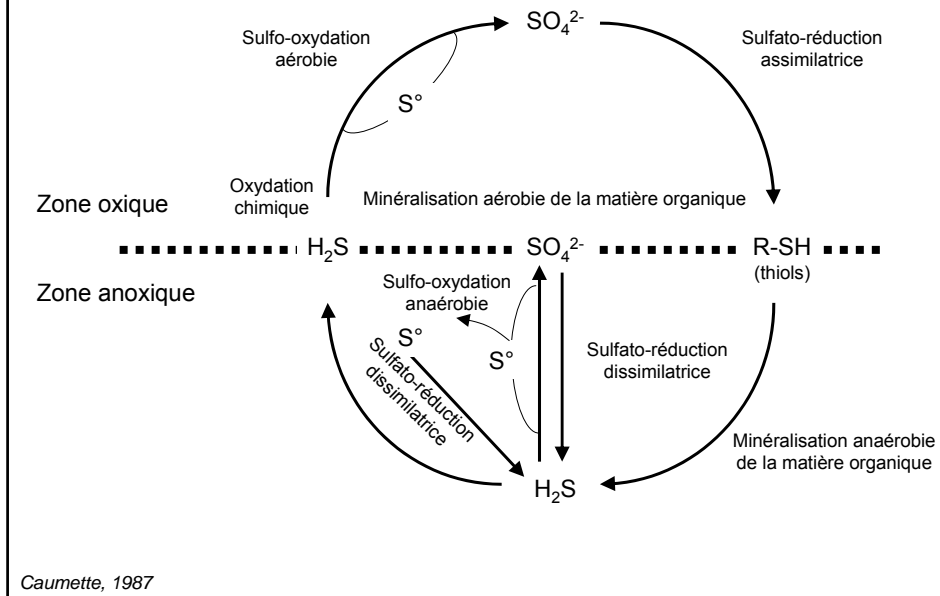
## Les bactéries sulfato-réductrices

- Procaryotes anaérobies ubiquistes
- Des domaines *Bacteria* et *Archaea*
- Les BSR sont morphologiquement et physiologiquement variées
- Utilise l'ion sulfate comme accepteur d'électrons
  - réduction en  $H_2S$  = mécanisme bioénergétique principal
- Utilise également d'autres molécules soufrées oxydées (thiosulfate, sulfite) ou le soufre comme accepteur d'électrons lors de l'oxydation de la matière organique (+ fumarate, malate ou nitrate comme accepteurs d'électrons)
- Utilise de nombreux composés organiques simples comme source de carbone et d'énergie (donneur d'électrons)
  - Ex: acétate, lactate, propionate ou butyrate peuvent être oxydé complètement en  $CO_2$  ou incomplètement en acétate.
- Utilise également acides gras, alcools, sucres et composés aromatiques comme sources de carbone et d'énergie potentielle

## Le cycle du soufre

- Élément majeur car rentre dans la composition de molécules telles que les acides aminés ou les protéines.
- Présent dans la nature sous la forme :
  - Sulfure  $S^{2-}$  : forme la plus réduite
  - Soufre élémentaire S
  - Sulfate  $SO_4^{2-}$  : forme la plus oxydée et la plus stable
- Ces différentes formes peuvent subir des transformations biotiques et abiotiques

## Cycle du soufre



Le cycle du soufre comprends 4 étapes:

- Réduction assimilatrice des composés sulfurés (pour la synthèse des acides aminés par les bactéries, les champignons et les plantes)
- Minéralisation du soufre organique
- Oxydation des composés réduits du soufre
- Réduction dissimilatrice des composés oxydés du soufre en conditions anoxiques (sulfate utilisé comme oxydant pour la dégradation des composés organiques)

en fonction des conditions de pH et d'oxydoréduction des transformations chimique abiotique peuvent se produire et peuvent être plus rapides qu'une oxydation biologique (autooxydation abiotique) mais incomplète

- à pH acide sulfure principalement oxydé en soufre élémentaire
- >0 pH neutre le sulfure est transformé en thiosulfate ( $S_2O_3^{2-}$ ) et sulfite  $SO_3^{2-}$

## Les bactéries méthanogènes

- Appartiennent exclusivement au domaine des *Archaea*
- Dans environnements anoxiques
- Production de méthane ( $\text{CH}_4$ ) notamment à partir du  $\text{CO}_2$  et de l' $\text{H}_2$
- Acétate = précurseur essentiel de la méthanogenèse dans le cas des méthanogènes acétoclastiques
- Mésophiles ou thermophiles modérés
- Dans environnements salés

## Les bactéries acétogènes

- Dans environnements anoxiques
- Production d'acétate :  
oxydation de substrats couplé à la réduction de protons avec pour résultats la production d'acétate et d' $\text{H}_2$  comme produits finaux selon deux voies principales :
  - à partir du  $\text{CO}_2$  et de l' $\text{H}_2$  (homoacétogenèse) : formation exclusive d'acétate))
  - À partir des sucres, des alcools, des composés en C1, des aminoacides, des acides gras ou encore des composés aromatiques
- Acétate = précurseur essentiel de la méthanogenèse dans le cas des méthanogènes acétoclastiques
- Acétogenèse peut se produire au cours de la fermentation

## Communautés microbiennes de la biosphère profonde

- Grande variété de fonctions biochimiques et métaboliques
- Dans sédiments marins, la sulfato-réduction apparaît comme le processus anaérobie majeur (BSR aussi détectées dans les eaux douces)
- Microorganismes présents mais également actifs et cultivables même isolés d'environnements profonds de plusieurs millions d'années

## Rôle clé de l'hydrogène moléculaire

- Omniprésent dans la nature
- Capacité à libérer des protons et des électrons
- Source d'énergie importante pour les bactéries
- Permet la réduction des nitrate, sulfates, métaux (Fe, Mn, ...), et du CO<sub>2</sub>
- Peut être produit de manière abiotique dans les environnements souterrains par:
  - Réaction entre les gaz dissous dans le système C-H-O-S des magmas
  - Décomposition du CH<sub>4</sub> en graphite et H<sub>2</sub> à des températures supérieures à 600°C
  - Réaction entre CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O et CH<sub>4</sub> à des température élevées
  - Radiolyse de l'eau
  - catalyse des silicates en présence d'eau (pH légèrement acide)
  - Hydrolyse des minéraux ferreux présents dans les roches basiques et ultrabasiques (serpentinisation)  
 $2\text{FeO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2 + \text{FeO}_3$
- H<sub>2</sub> peut ainsi diffuser dans la lithosphère pour alimenter des écosystèmes anaérobies



## Rôle clé de l'hydrogène moléculaire

- Selon les accepteurs d'électrons disponibles sous forme inorganiques dans le système on peut avoir :
  - Méthanogenèse
  - Acétogenèse
  - Sulfato réduction
- Les bactéries autotrophes capables de réaliser la réaction  $H_2 + CO_2$  peuvent fonctionner comme producteur primaire de la matière organique

## Cycle proposé pour le carbone et l'hydrogène dans la biosphère profonde (en condition anoxique)

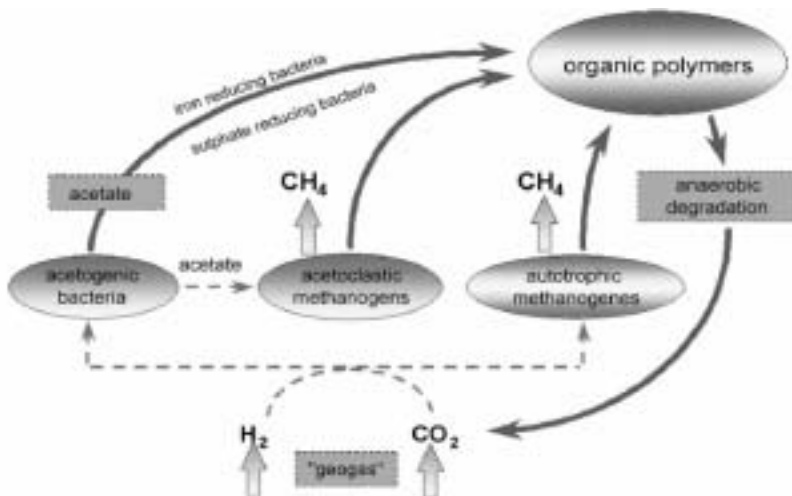
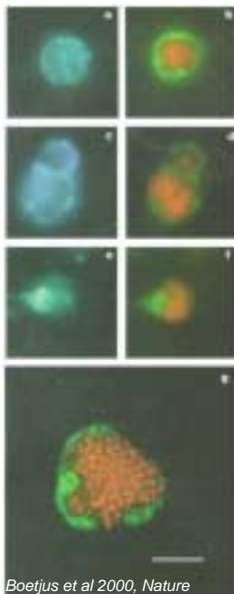


Fig. 2. Scheme of subsurface microbial anaerobic community based on usage of hydrogen (from Pedersen, 1997).

## L'habitat souterrain: un écosystème complexe

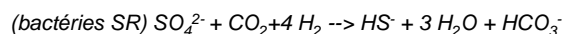
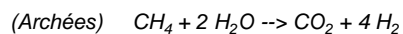
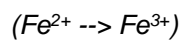
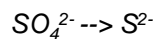
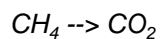
- En fonction de la profondeur, de la faible perméabilité, de l'âge des couches géologiques : conditions oligotrophes parfois hostiles à la vie microbienne
- Production abiotique d' $H_2$  peut jouer un rôle important dans le développement de bactéries autotrophes ou hétérotrophes dans ces milieux profonds (donneur d'électron et source d'énergie)
- $CO_2$  : source de carbone importante
- Dans les environnements anoxiques, la consommation de la matière organique par les microorganismes dépend souvent de la collaboration de plusieurs espèces entre elles



Boetjusz et al 2000, Nature

### Exemple de collaboration entre espèces

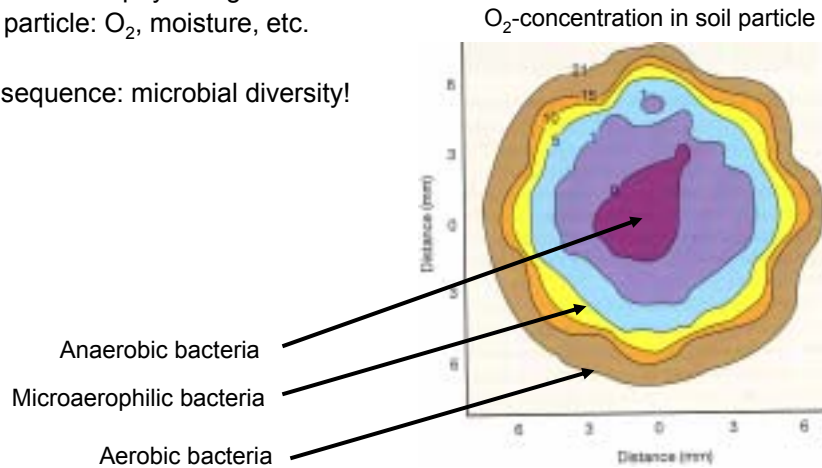
✓ archées                      ✓ bactéries sulfato réductrices



Coexistence de bactéries sulfato réductrices et d'archées observé par Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)

## Importance des microenvironnements

- Environment where microbe lives
- Small!
- Chemical and physical gradients
- Soil particle: O<sub>2</sub>, moisture, etc.
- Consequence: microbial diversity!



## Communauté microbiennes souterraines profondes

### En résumé :

- Métabolisme anaérobie strict
- Environnement réducteur
- Densité microbienne faible
- Taux métaboliques bas (faible quantité de nutriments)
- Très stables
- protégées des irradiations
- Les processus sont lents et limités par la diffusion.
- Facteurs limitants de la vie microbienne : caractéristiques physico-chimiques de l'habitat (température, pression, pH, porosité, ...)

## En résumé :

- Capacité microbienne d'utiliser toutes formes d'énergie thermodynamiquement disponibles dans l'environnement
- Production continue de  $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $CO_2$  = sources de carbone et d'énergie
- Rôle primordial de l'hydrogène  
(95 % d'archées méthanogènes utilisant  $H_2$  et  $CO_2$  pour produire  $CH_4$ )
- Sources de carbone
  - ⇒ Carbone organique de surface drainé par les eaux de recharge souterraines
  - ⇒ Matière organiques des roches sédimentaires
  - ⇒ Gaz réduits en provenance du manteau ( $H_2$ ,  $CH_4$ , ..)
  - ⇒ ...
- Les microorganismes intraterrestres ne peuvent pas être plus actifs que ce que permet la quantité d'énergie biodisponible

## Beaucoup de questions persistent ...

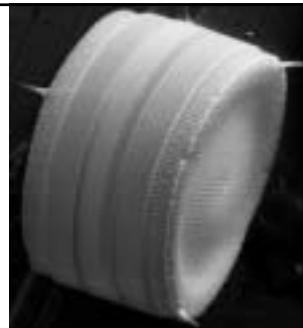
- Les communautés microbiennes présentes, isolées et caractérisées sont elles endémiques à ces habitats ?
  - propre à une zone région donnée ou migration depuis la surface au cours de la sédimentation ou introduites par les forages et l'exploitation du sous sol par l'homme ?
- De quelle manière les flores microbiennes ont-elles évolué et se sont elles adaptées à ce type d'écosystèmes ?
- Rôle des micro-eucaryotes ?
- ...

??

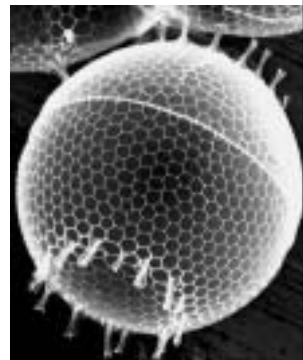
# Et la biominéralisation ?

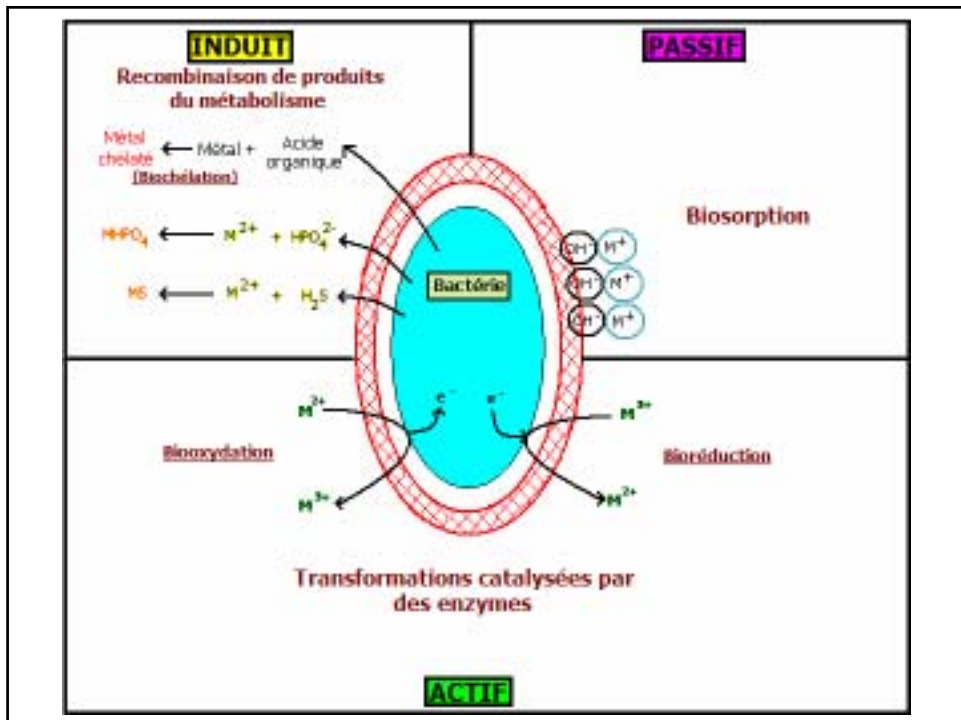
## Biomineralization

- Ion uptake or release
- Center for crystallization
- Control of crystal growth by matrix (e.g. protein, glycoprotein)
  - Diatoms: (unicellular algae; their cell walls are made of amorphous silica; use organic membrane)
  
- Microbial cell wall as surface? Negative surface charge...



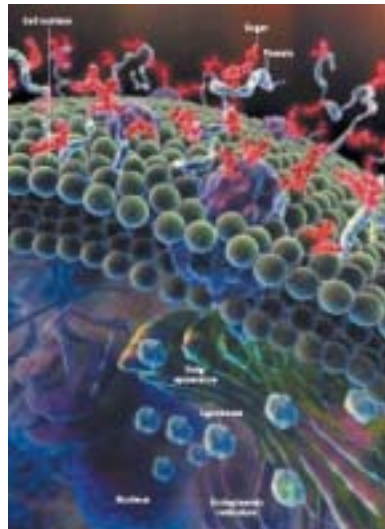
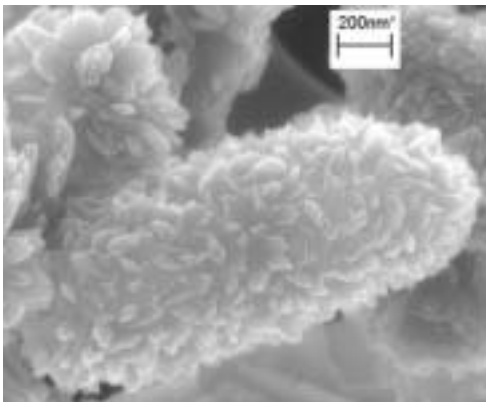
Diatoms





## Precipitation of minerals at cell surfaces

- Negative charges of cell surfaces
- Adsorption of positively charged metal ions



## Minéraux initiés ou catalysés par les micro-organismes

- Réactions assimilatrices

Les ions métalliques oxydés ou réduits sont incorporés dans le matériel cellulaire (cofacteur des enzymes, inclusions, ...)

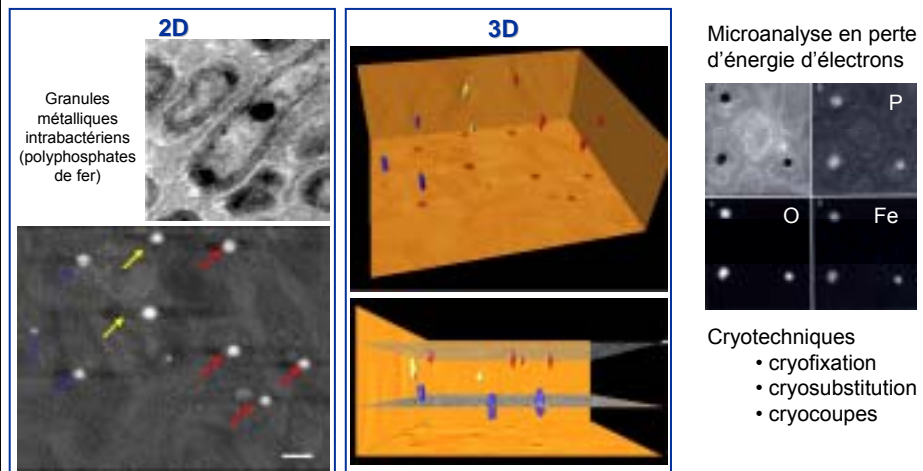
- Réactions dissimilatrices

Les ions métalliques sont utilisés comme donneurs ou accepteurs d'électrons pendant la respiration et ne sont pas incorporés dans la cellule

- Réponses à la toxicité

### *Imagerie par tomographie électronique*

Mise en place d'une collaboration avec le service de Microscopie électronique de l'université Paris 6

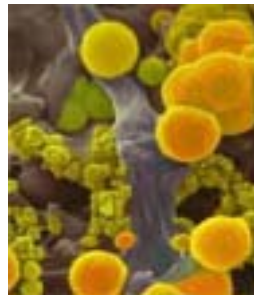


Boudier et al., 2005

Les microorganismes présentent des **métabolismes très variés** qui leur permettent **d'interagir chimiquement** avec de nombreux minéraux, de les **altérer** ou de les **synthétiser**

## Minéralisation Induite Biologiquement (BIM)

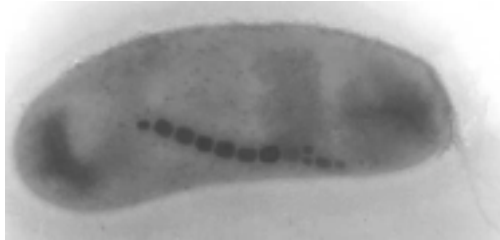
- Nucléation et croissance minérale généralement extracellulaire qui résulte de l'activité métabolique des organismes et des réactions chimiques subséquentes mettant en jeu les produits du métabolisme
- Faible cristallinité et grande taille des biominéraux, faible spécificité des morphologies cristallines, inclusions d'impuretés
- Indistinguables de la minéralisation inorganique sous des conditions environnementales équivalentes
- Les minéraux se forment souvent à partir des solutions environnantes après diffusion des espèces hors de la cellule mais les surfaces bactériennes ou les polymères sécrétés (biofilms, spores, ...) sont des sites d'adsorption des ions, de nucléation et de croissance des biominéraux
- Bioremédiation, dépollution, impact géologiques (formation des BIF, ...), biomarqueurs





## Minéralisation Contrôlée Biologiquement (BCM)

- Minéraux formés et déposés dans des matrices organiques ou des vésicules à l'intérieur de la cellule
- L'organisme exerce un contrôle significatif sur la nucléation, la composition, la taille et la localisation des biominéraux (contrôle métabolique et génétique)
- Biominéraux ont une cristallographie bien contrainte et ordonnée avec de très petites distributions de tailles
- Biominéraux ont une fonctionnalité (squelette, coquille, ...)
- Pas sensible aux conditions environnementales extérieures
- Bactéries magnétotactiques, ...



## Bioweathering

- Dissolution of rocks/minerals
- Physical, chemical, biological processes
- Microbial metabolites (ligands)
- pH-changes
- Exopolysaccharides, acids
  - Oxalic acid, citric acid
  - Alginic acid
  - Pectin

