

# Biominéralisation & cycles biogéochimiques globaux

Activité biologique

=

force dominante qui modèle la structure chimique et l'évolution des environnements à la surface de la terre



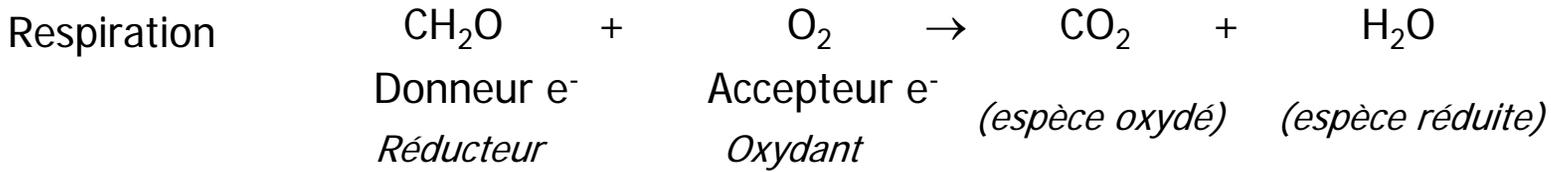
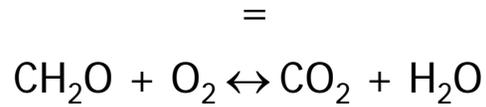
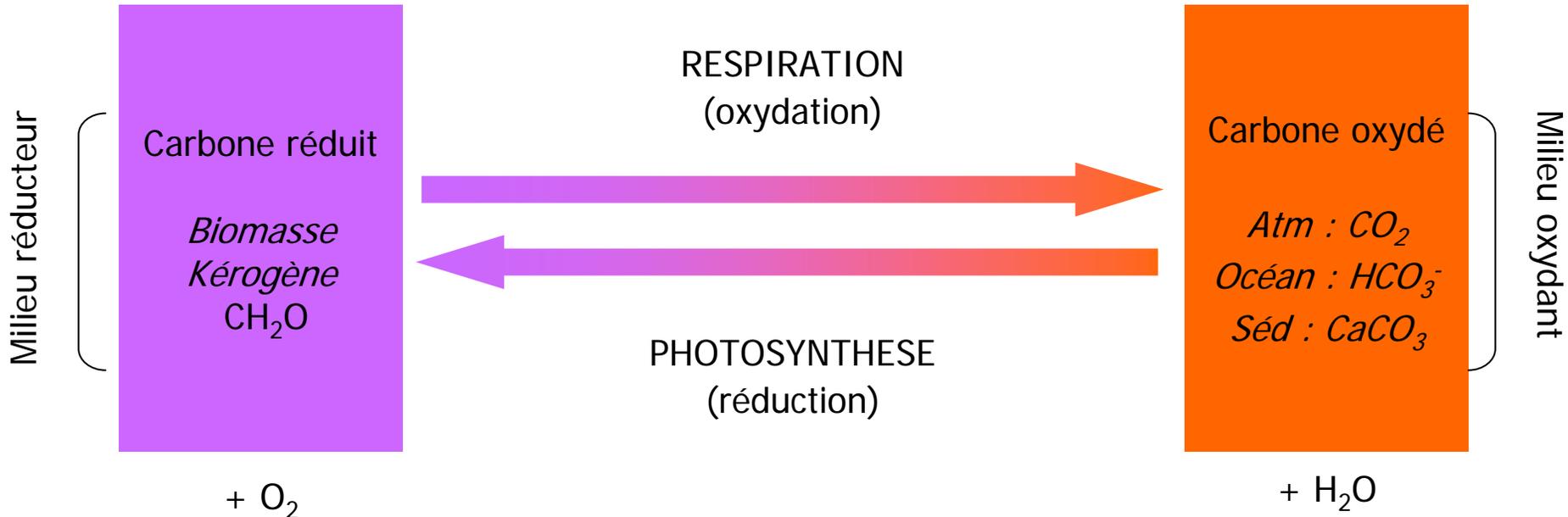
Atmosphère/hydrosphère oxygénée

/

Terre solide fortement réductrice



# Métabolisme chez la majorité des eucaryotes



➡ état d'oxydation de la Terre régulé par le  $\text{CO}_2$

La biosphère profonde :  
un habitat important pour les micro-organismes

# La biosphère souterraine

*Présents et actifs jusqu'à plusieurs milliers de mètres de profondeur et tant que la température le permet*

- Cavités souterraines et aquifères profonds
- Sédiments profonds
- Sous sol océanique et continental (*roches ignées, dépôts salifères, ...*)
- Réservoirs d'huile et pétrole

- 5300 m : aquifères des roches ignées (forage de Gravenberg : 65-75°C)
- 2800 m de profondeur dans des roches continentales sédimentaires (Taylorsville Basin, Virginia)

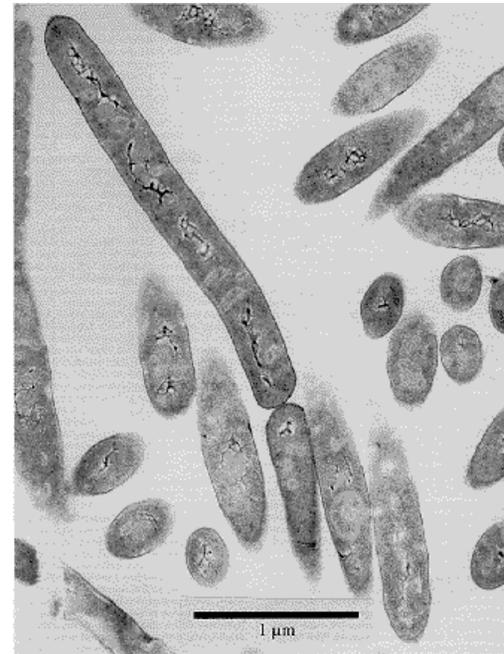
halotolérant, thermophile (76°C), barophile (32 Mpa), Fe(III) et SO<sub>4</sub>-réductrices



Pedersen, Göteborg University

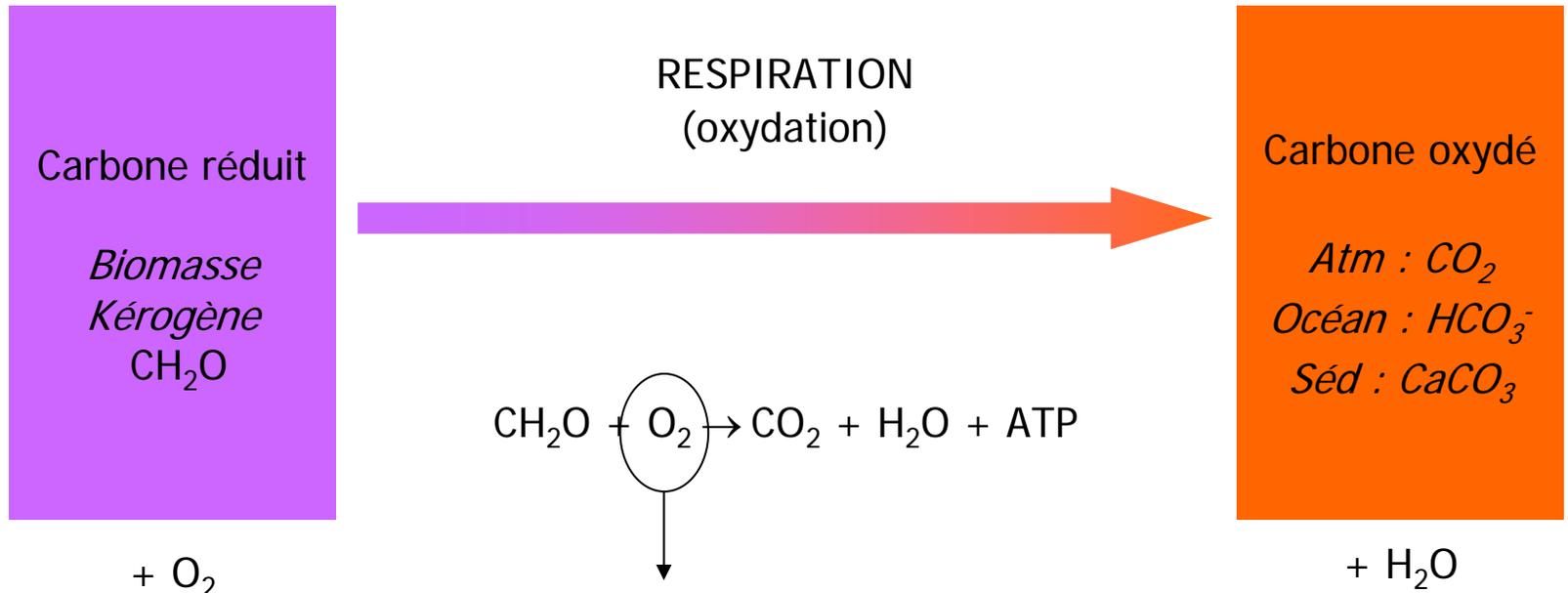
Etang (100m de profondeur) avec croissance de bactéries ferroxydantes

*Bacillus infernus*



# Migration des bactéries dans le sous sol

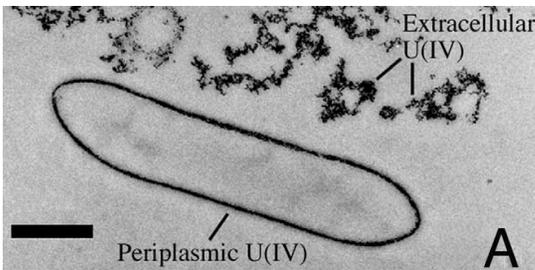
- Plusieurs hypothèses pour l'origine des bactéries dans le sous sol:
  - Migration depuis la surface soit par un processus naturel géologique soit par les opérations de forage
  - Migration latérale ou verticale avec l'eau de surface via les infiltrations, les flux hydrodynamiques et les mouvements d'eau profonde (plusieurs km)
  - Capture dans les sédiments lors de leur formation



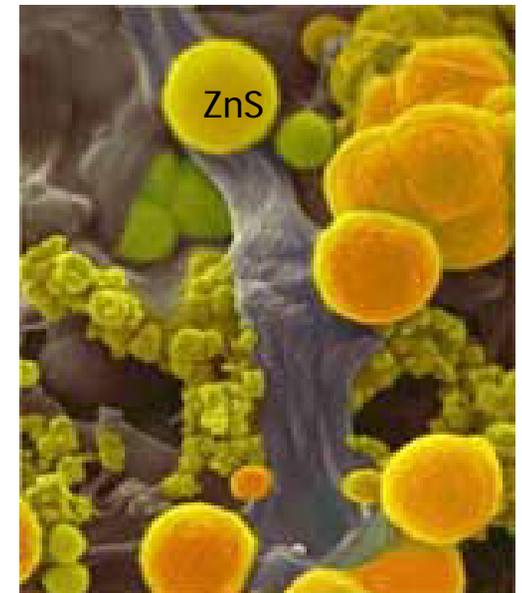
Accepteur d'électrons  
indisponible en anaérobiose

⇒ Alternatifs en profondeur :

- nitrates ( $NO_3^-$ ):
- sulfates ( $SO_4^{2-}$ ):
- carbonates ( $CO_3^{2-}$ ):
- métaux et métalloïdes



Lloyd



Banfield

# La biomasse profonde

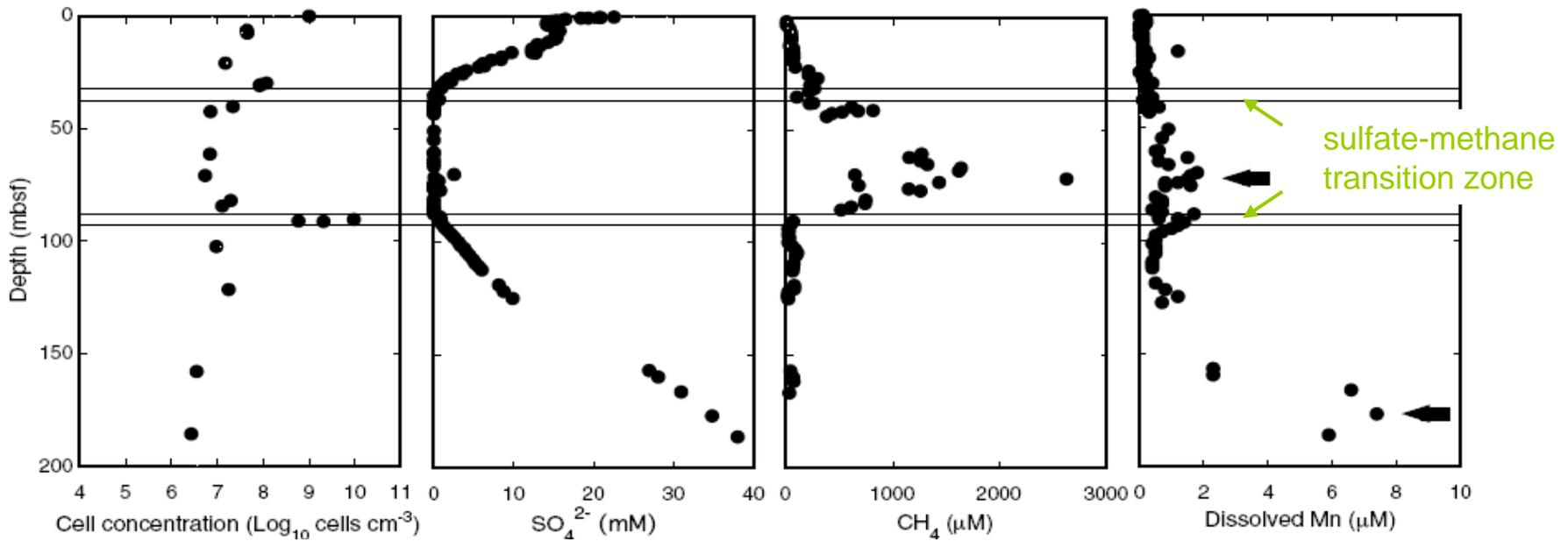
- dépend des sites étudiés
- $10^3$  à  $10^8$  individus par ml d'eau ou gramme de sédiment  
= 1-10  $\mu\text{g}$  de matière organique sèche
- biomasse conséquente si intégré sur tout le volume de croûte océanique et continentale (sédiments, aquifères, ...)

Global carbon content in plant and prokaryotic biomass

Ecosystem	Carbon content, $10^{12}$ kg of C		
	plant	soil and aquatic prokaryotes	intraterrestrial prokaryotes
Continental	560	26	22-215
Oceanic	1.8	2.2	303
Total	561.8	28.2	325-518

Whitman, 1998, PNAS

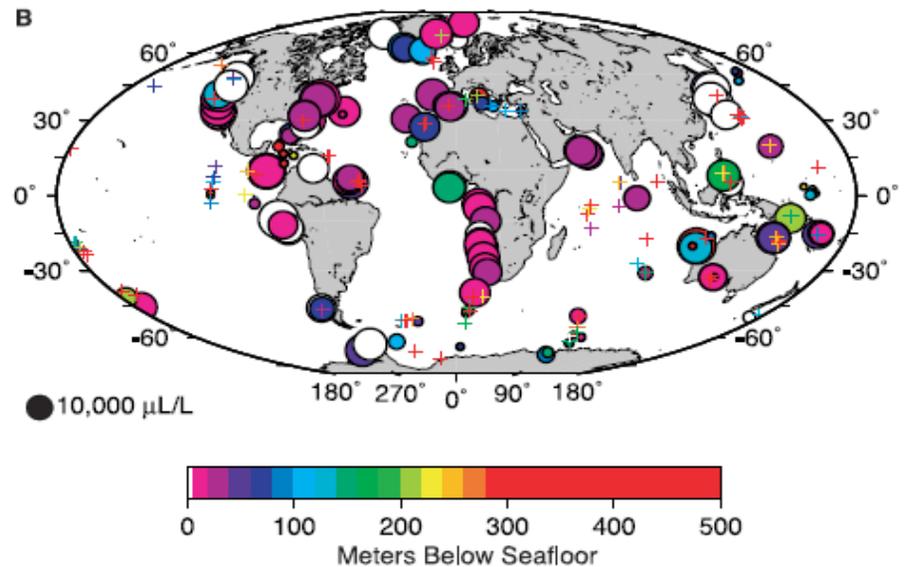
- vie microbienne riche (nombreux espèces inconnues, caractéristiques biochimiques et physiologique unique)



Concentration profiles of cells and some dissolved chemicals at IODP site 129 (Peru Margin)



Global  $\text{CH}_4$  map



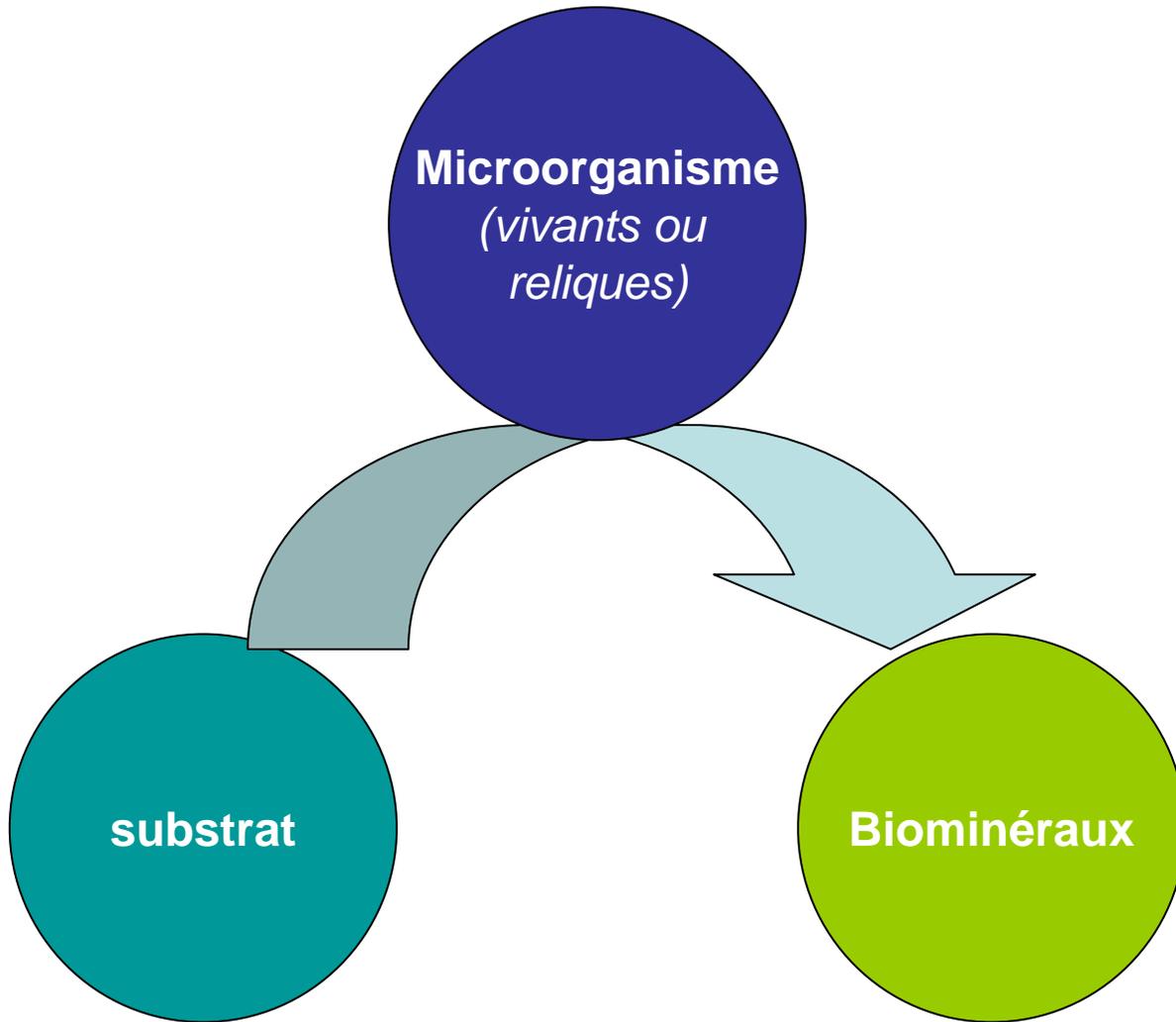
Fortes interactions de ces microorganismes avec les fluides et les roches de la lithosphère



Impact sur les grands cycles géochimiques globaux



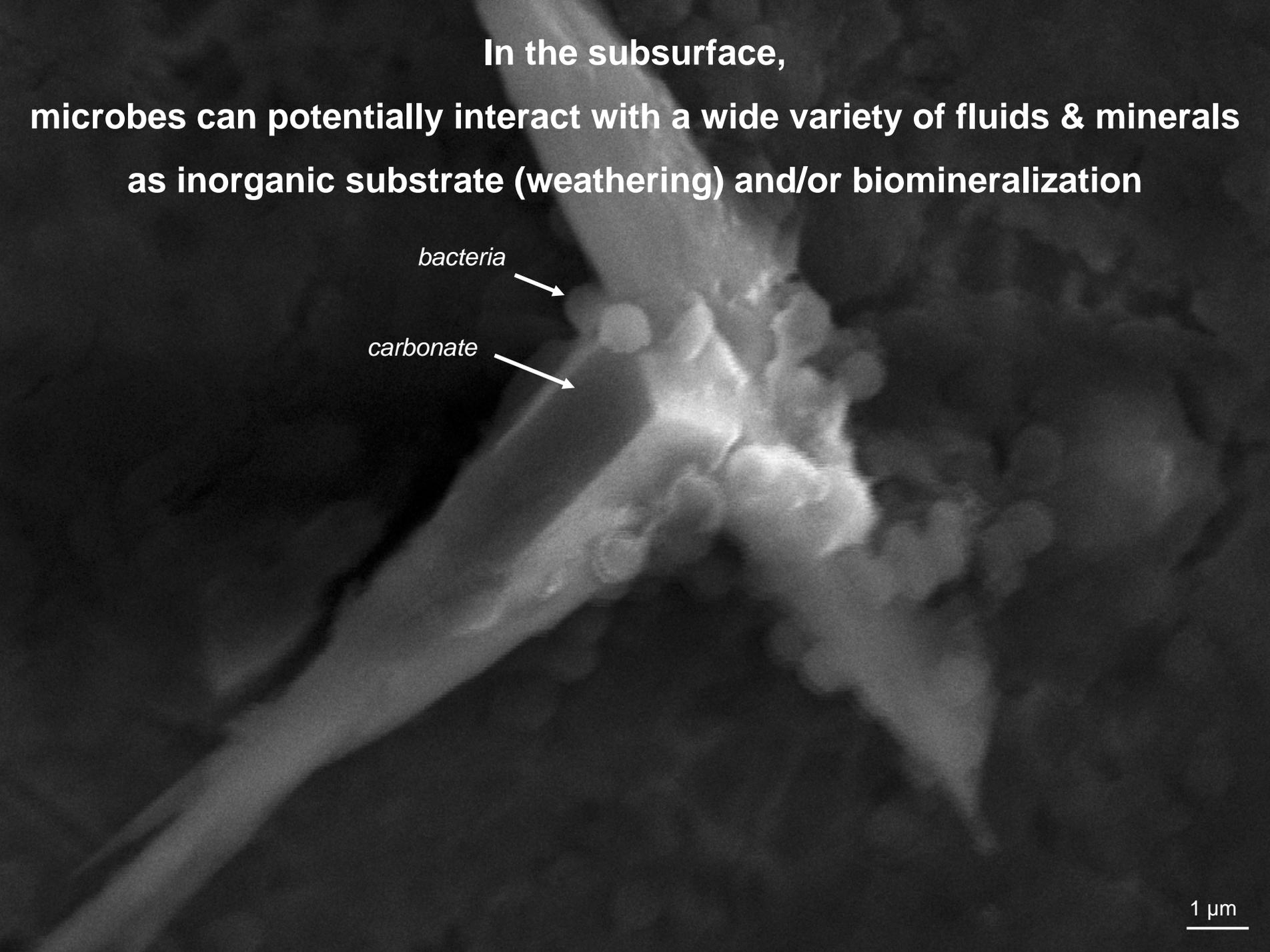
Nécessité d'explorer ces systèmes pour comprendre les processus et quantifier les flux

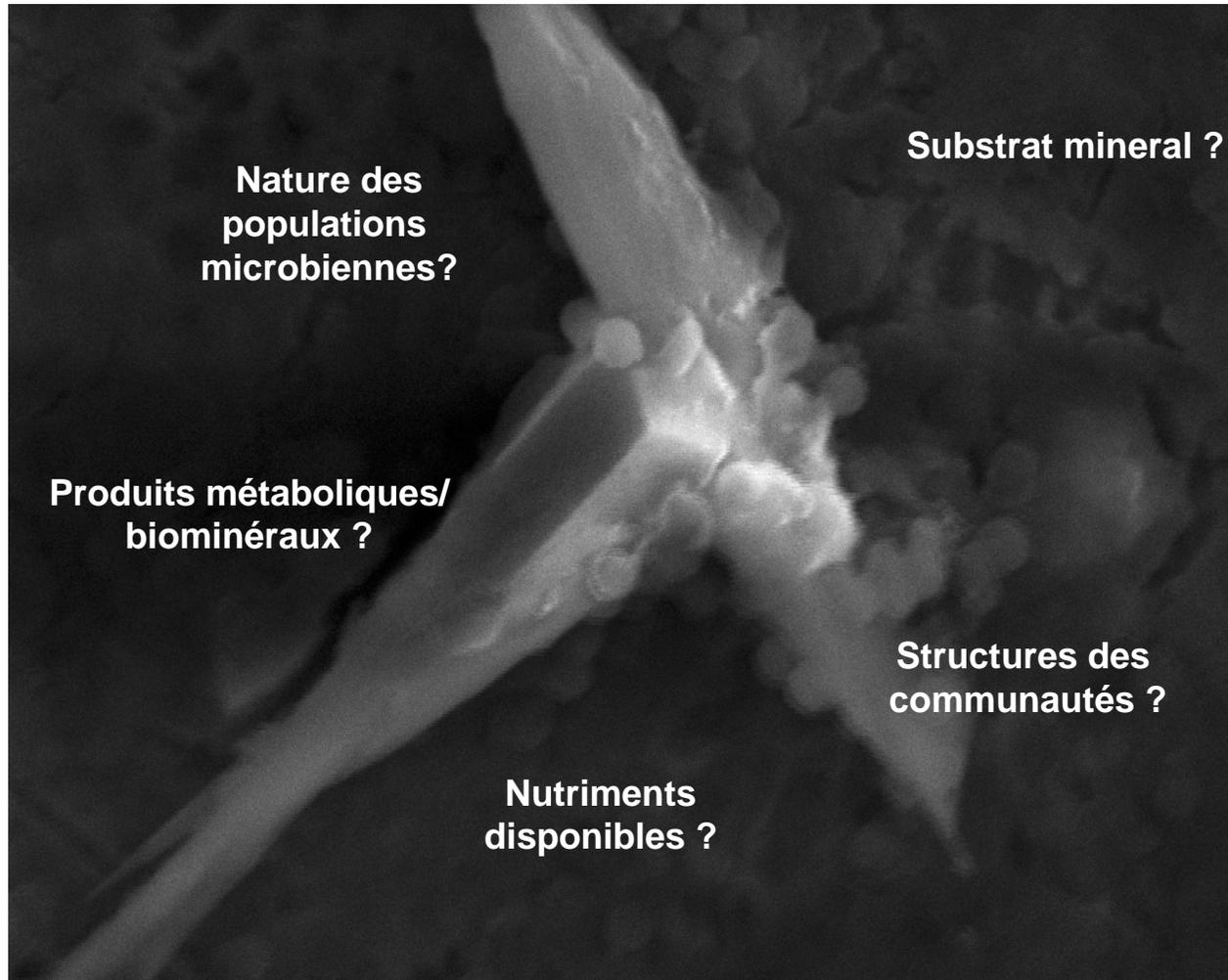


**In the subsurface,  
microbes can potentially interact with a wide variety of fluids & minerals  
as inorganic substrate (weathering) and/or biomineralization**

*bacteria* →  
*carbonate* →

1 μm





**Nature des  
populations  
microbiennes?**

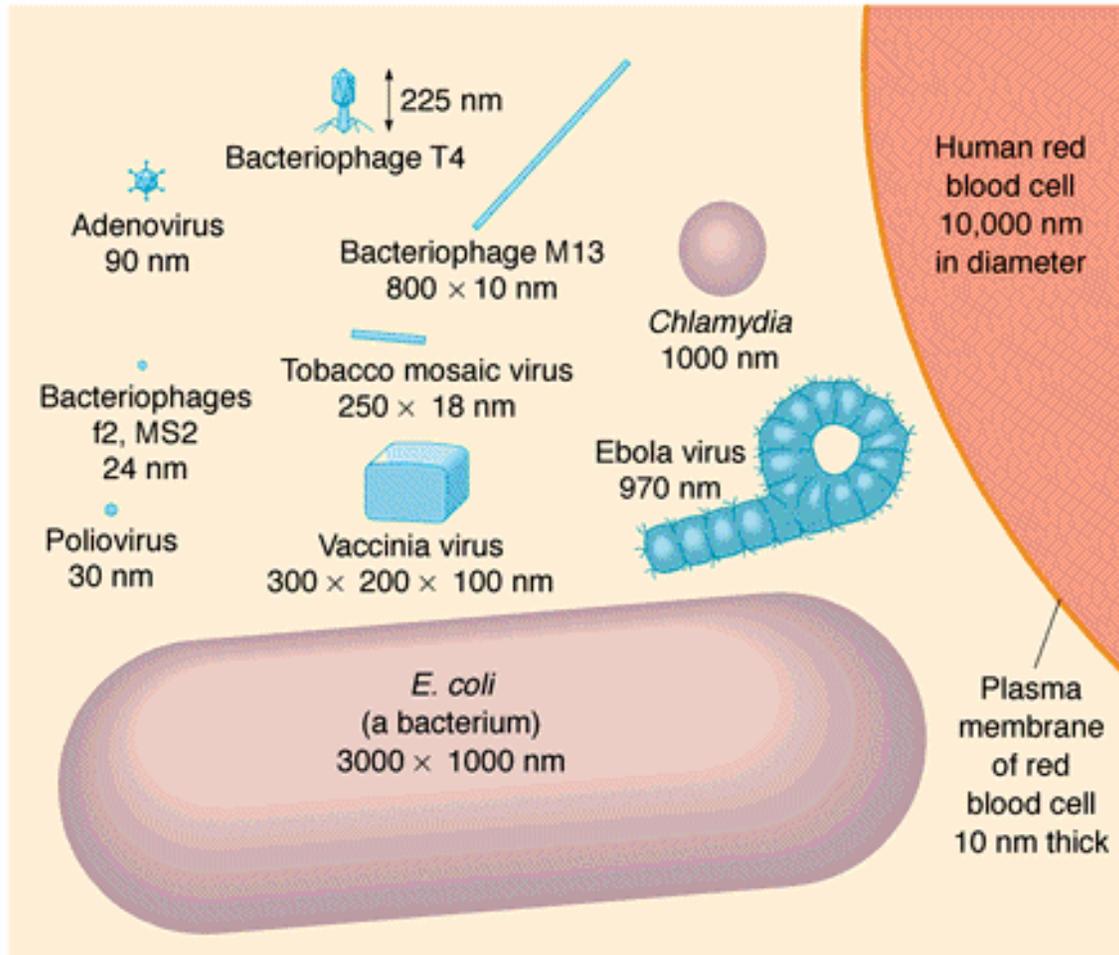
**Substrat mineral ?**

**Produits métaboliques/  
biominéraux ?**

**Structures des  
communautés ?**

**Nutriments  
disponibles ?**

# Taille des cellules procaryotes



Diamètre: 0,2 à 2,0  $\mu\text{m}$

Longueur: 2 à 8  $\mu\text{m}$

# Morphologie et arrangement des cellules procaryotes

- Batonnets : (1 à 10  $\mu\text{m}$ )



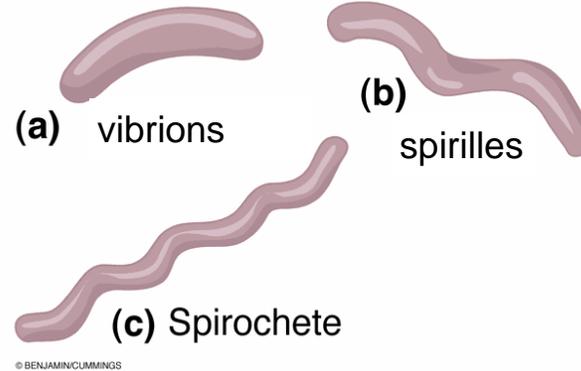
bacilles

- Sphères : (1-2  $\mu\text{m}$ )

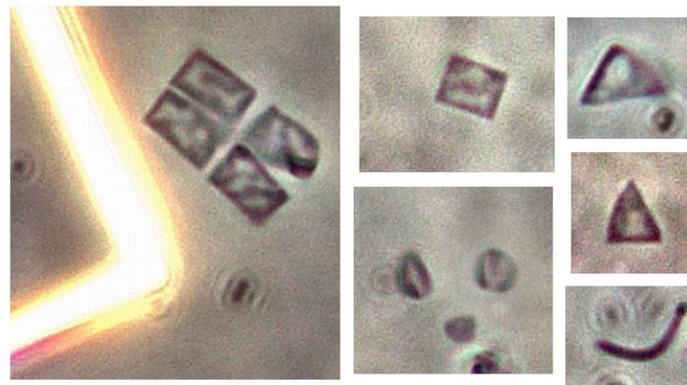


coques

- Spirales :



- Carré plat/Triangle :

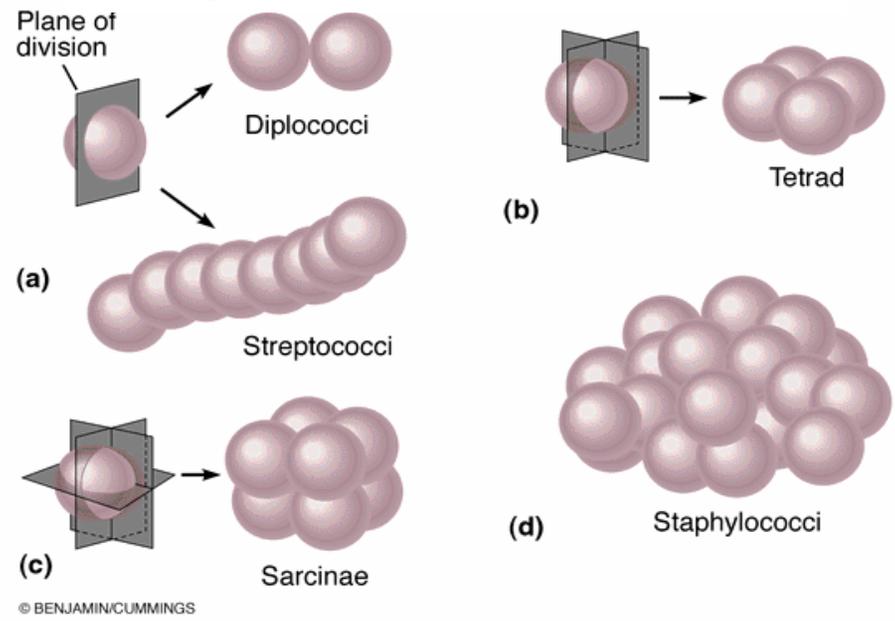


- Etoilé :



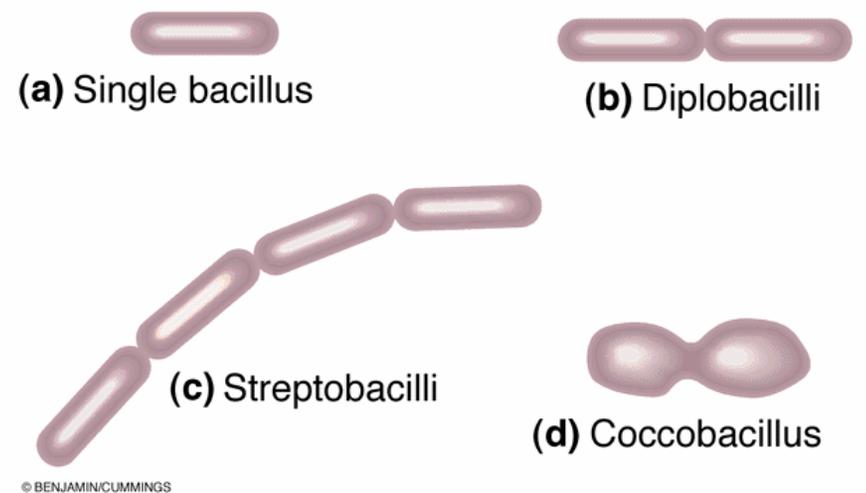
# Morphologie et arrangement des cellules procaryotes

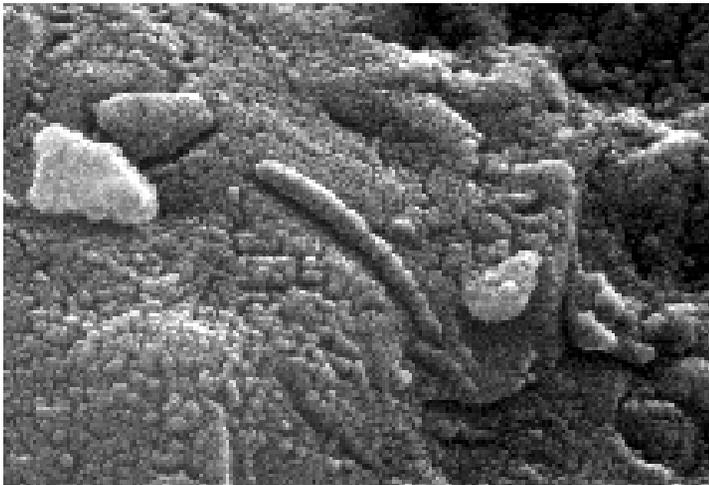
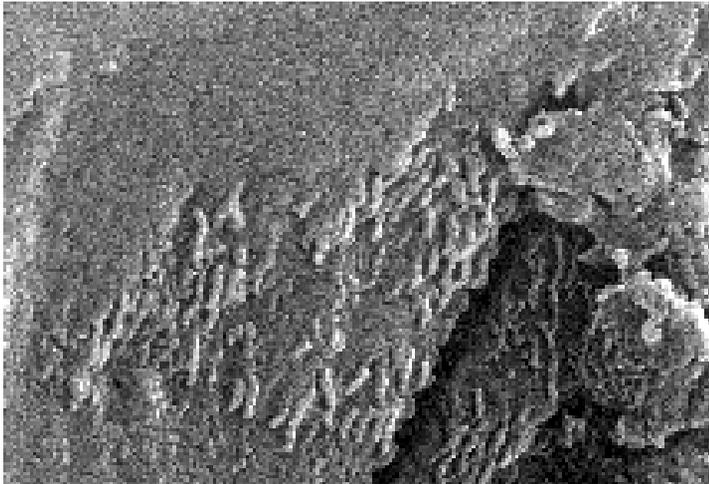
## Arrangements courants des coques



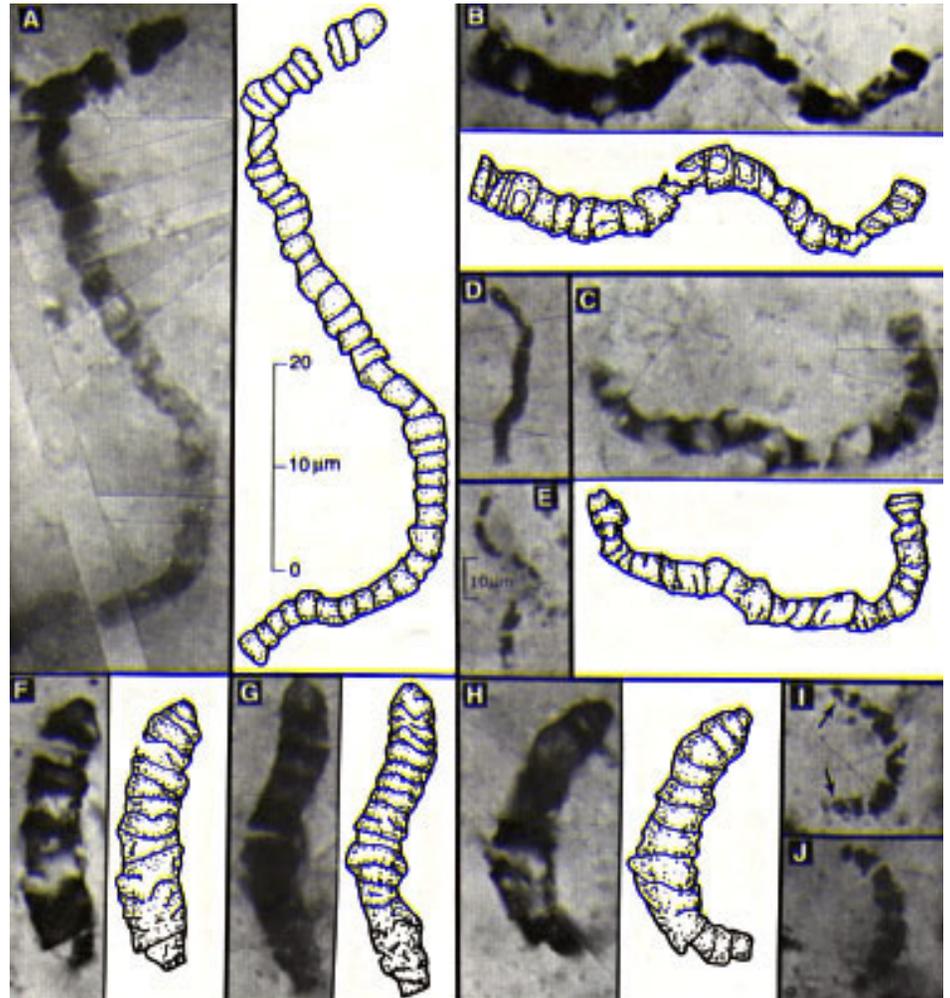
La plupart des procaryotes maintiennent une seule forme (monomorphe) qui peut être affectée néanmoins par des facteurs environnementaux

## Arrangements courants des bacilles



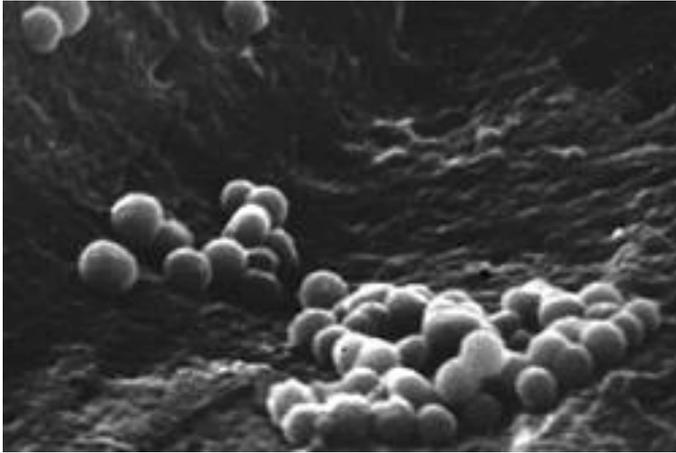


McKay et al.



Schopf et al.

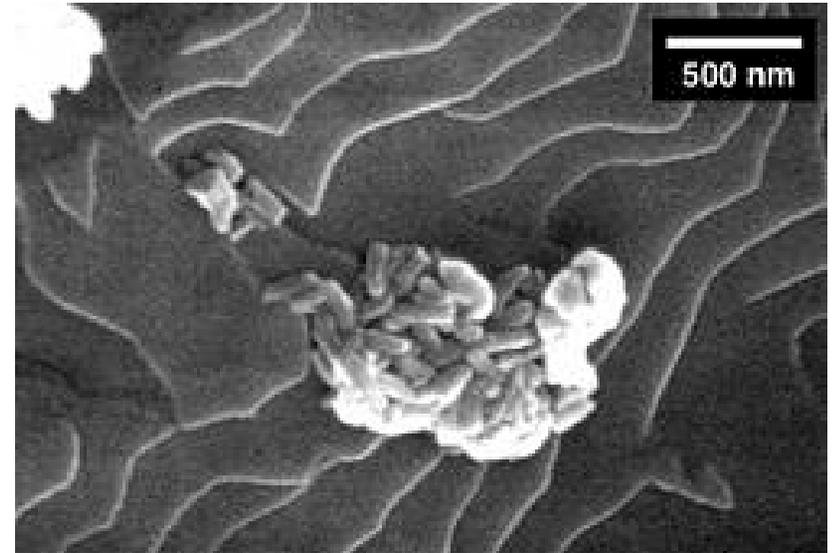
## Nanobactéries ? .....



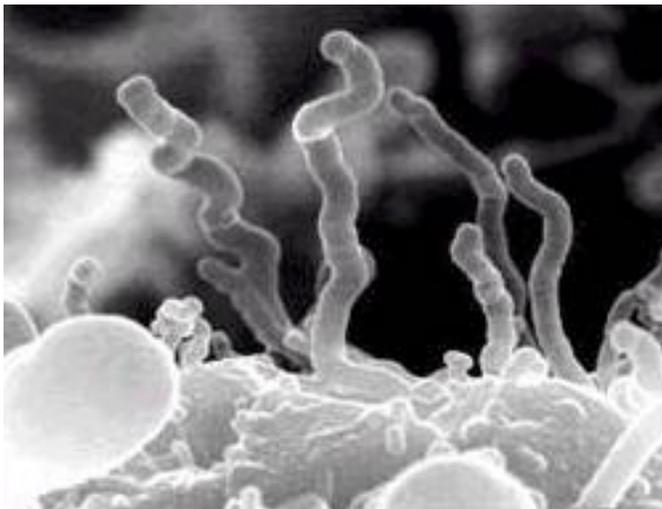
structures sphériques de 200 nanomètres de diamètre en amas dans un cristal de calcite (source chaude, Italie)  
*Department of Geological Sciences, University of Austin, Texas*

colonie en forme de bacilles sur une lamelle de mica biotite dans un granite altéré.

*Department of Geological Sciences, University of Austin, Texas*



structures filamenteuses de 20 à 150 nanomètres dans un sédiment provenant du plancher océanique  
*University of Queensland, Australie*



# Méthodes moléculaires et écologie microbienne

Génomique et Protéomique

Approche géomicrobiologique

Approche couplée

**GLOBAL**  
à l'échelle de l'échantillon  
(*extraction ADN/ARN, lipides, ....*)

**LOCAL**  
microimagerie

# Importance des microenvironnements

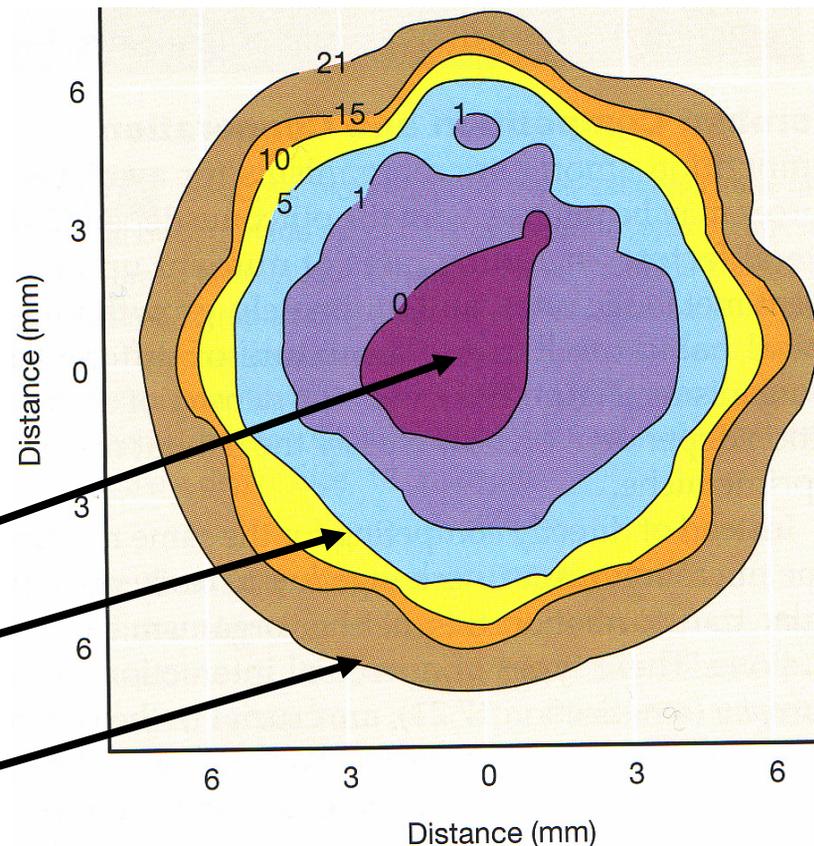
- Petit !
- gradients physiques et chimiques
- **Conséquence:**
- grande diversité microbienne à toute petite échelle

*Anaerobic bacteria*

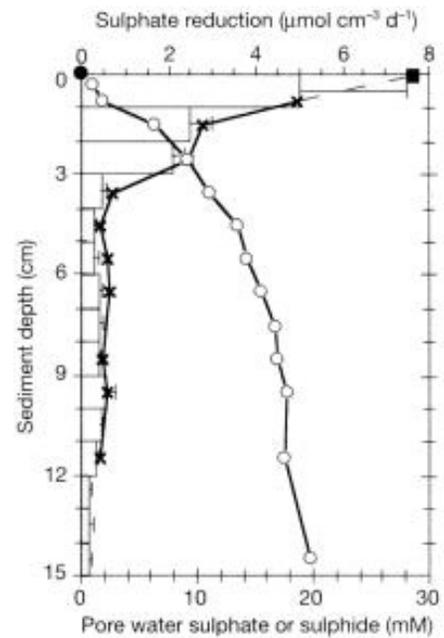
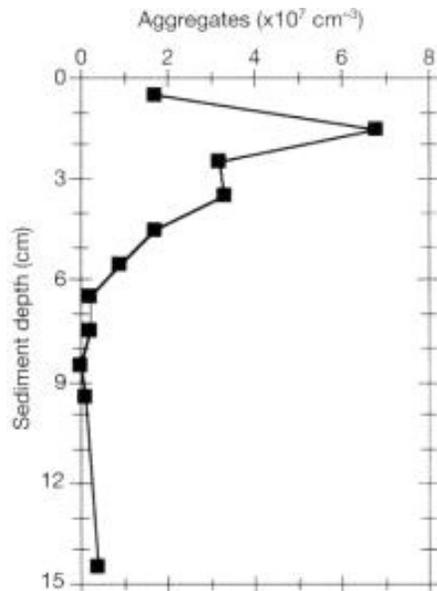
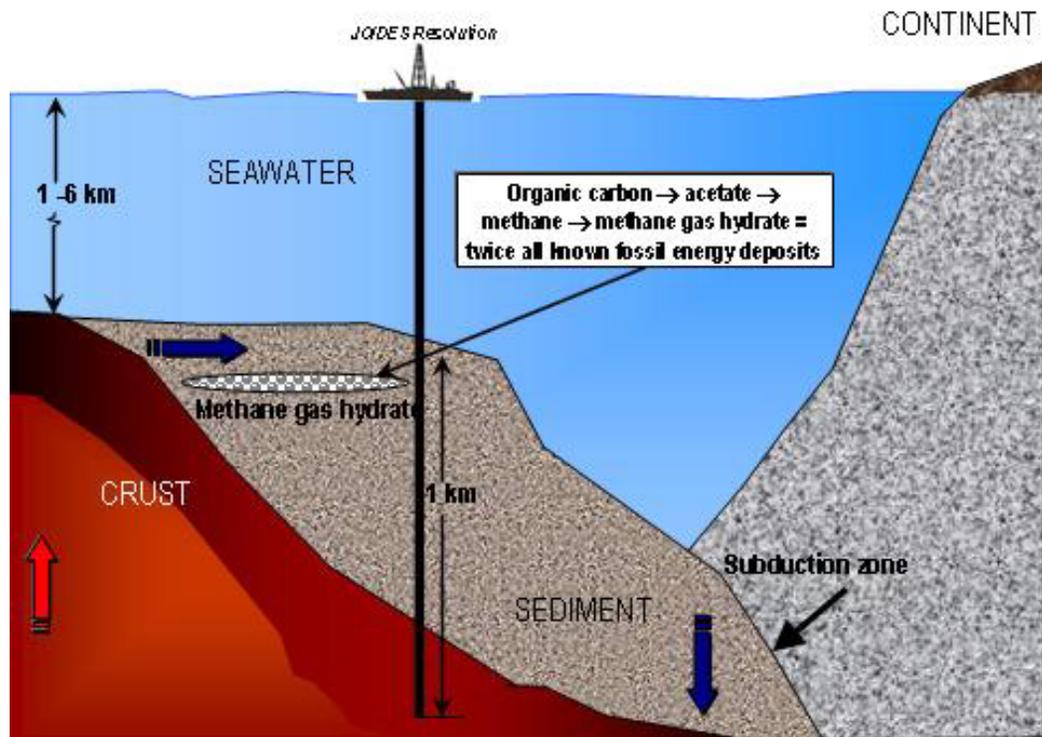
*Microaerophilic bacteria*

*Aerobic bacteria*

[O<sub>2</sub>]  
(dans particule de sol)



# Méthodes moléculaires et écologie microbienne

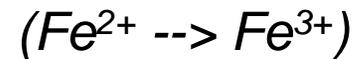
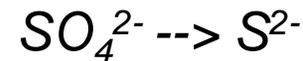
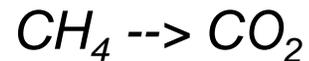


Grande diversité génétique et métabolique  
même au sein d'un même microenvironnement

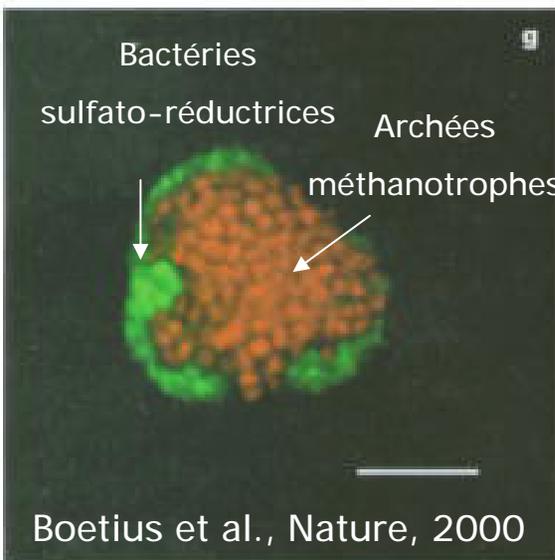
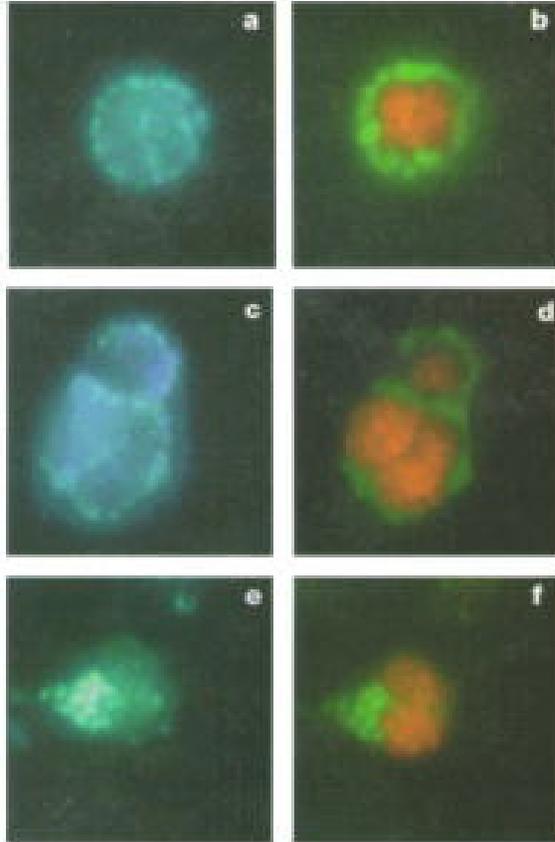
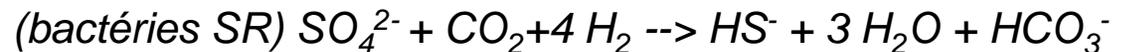
*Exemple de collaboration entre espèces*

✓ archées

✓ bactéries sulfato réductrices

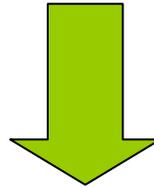


Oxydation anaérobie du méthane



Boetius et al., Nature, 2000

Dans ce cas, des hypothèses ont pu être posées sur  
les métabolismes car groupes bien identifiés  
(rarement le cas)



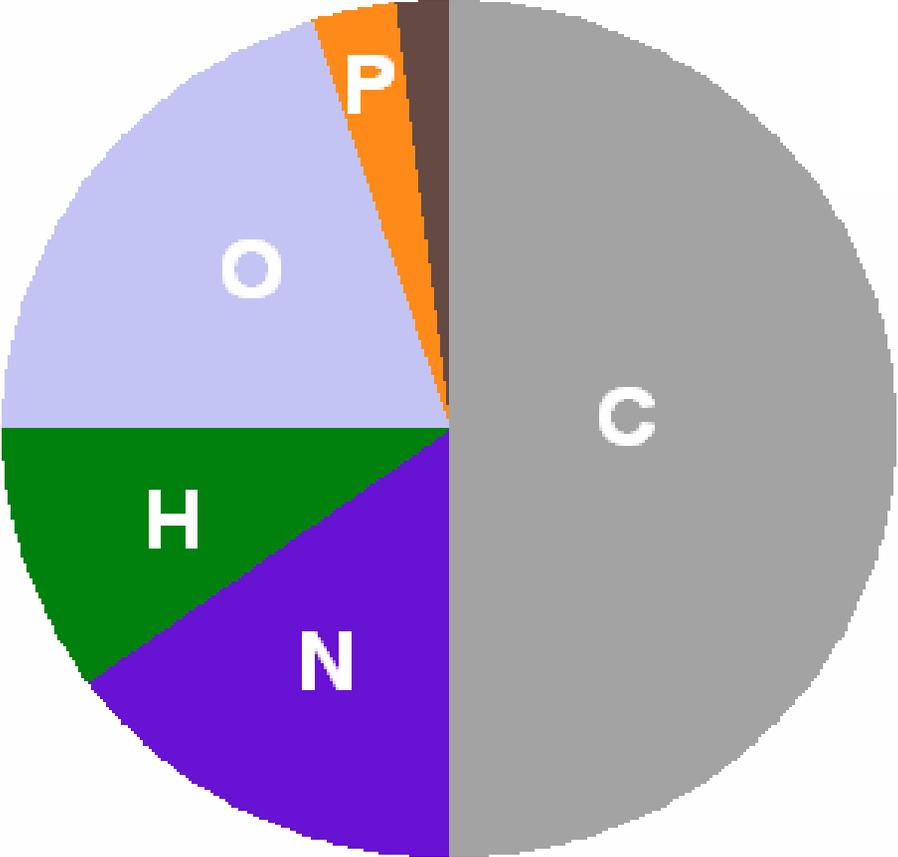
Génomique/ Protéomique

!!!! Difficultés de mise en œuvre en milieux minéralisés!!!!

*Alternative :*

Approche géomicrobiologique

Ca

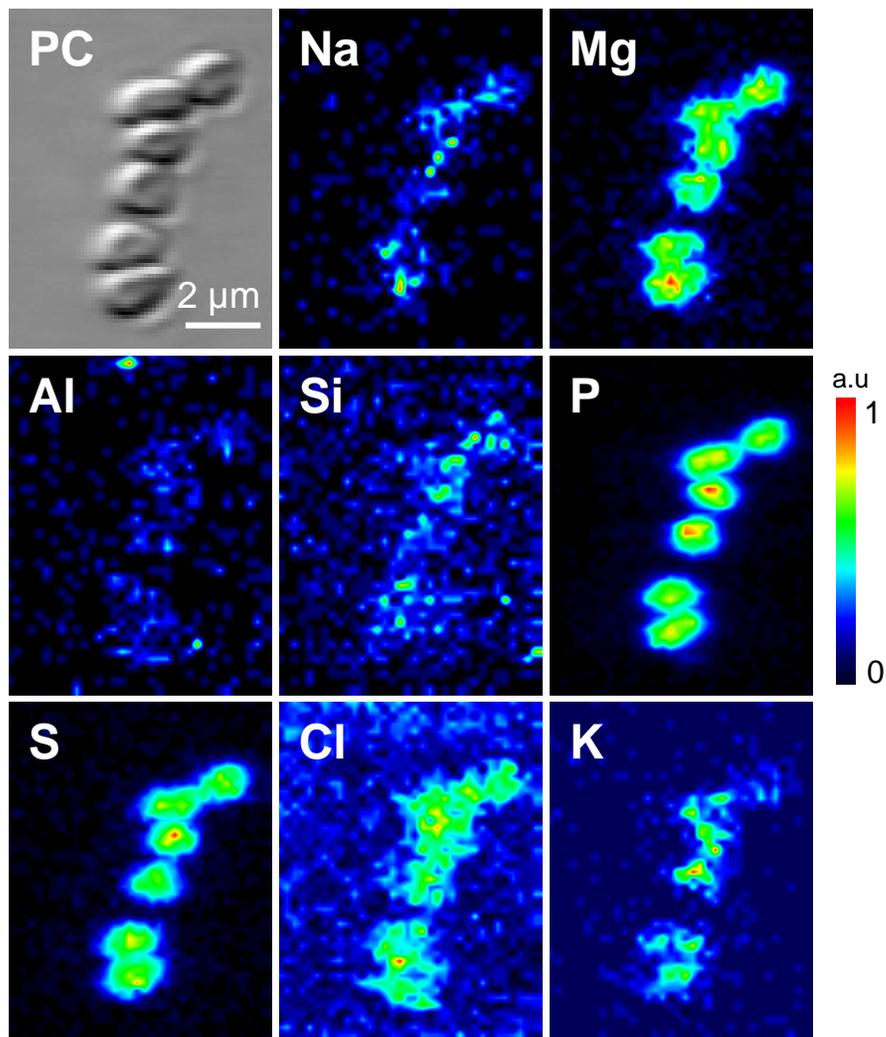


- **Éléments majeurs : Plus de 98% de la masse d'un organisme est faite de 6 éléments.**
  - **Oxygène (O): 65%** de la masse cellulaire
    - respiration cellulaire, composant de l'eau et de la plupart des composés organiques.
  - **Carbone (C): 18%**
    - base de tous les composés organiques.
  - **Hydrogène (H): 10%**
    - composant de l'eau et de la plupart des composés organiques.
  - **Azote (N): 3%.**
    - Composant des protéines et des acides nucléiques (AND/ARN)
  - **Calcium (Ca): 1,5%.**
    - Os, dents, muscles, ....
  - **Phosphore (P): 1%**
    - Os, acides nucléiques, transfert d'énergie (ATP).

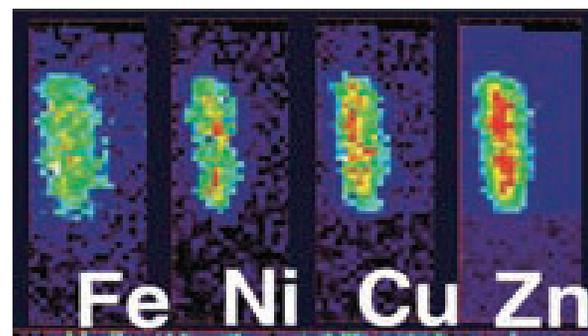
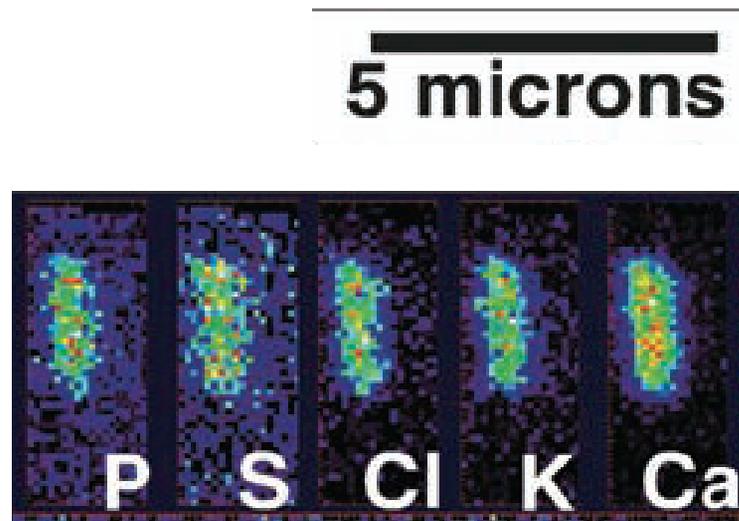
- **Éléments mineurs : entre 1% et 0,01%.**
  - **Potassium** (K): cation principal à l'intérieur des cellules
  - **Soufre** (S): composant de la plupart des protéines.
  - **Sodium** (Na): cation principal à l'extérieur des cellules (tamponnage des fluides, ...)
  - **Chlore** (Cl): anion principal à l'extérieur des cellules
  - **Magnésium** (Mg): composant de beaucoup d'enzymes et de la chlorophylle

- **Éléments traces: moins de 0,01% de la masse**

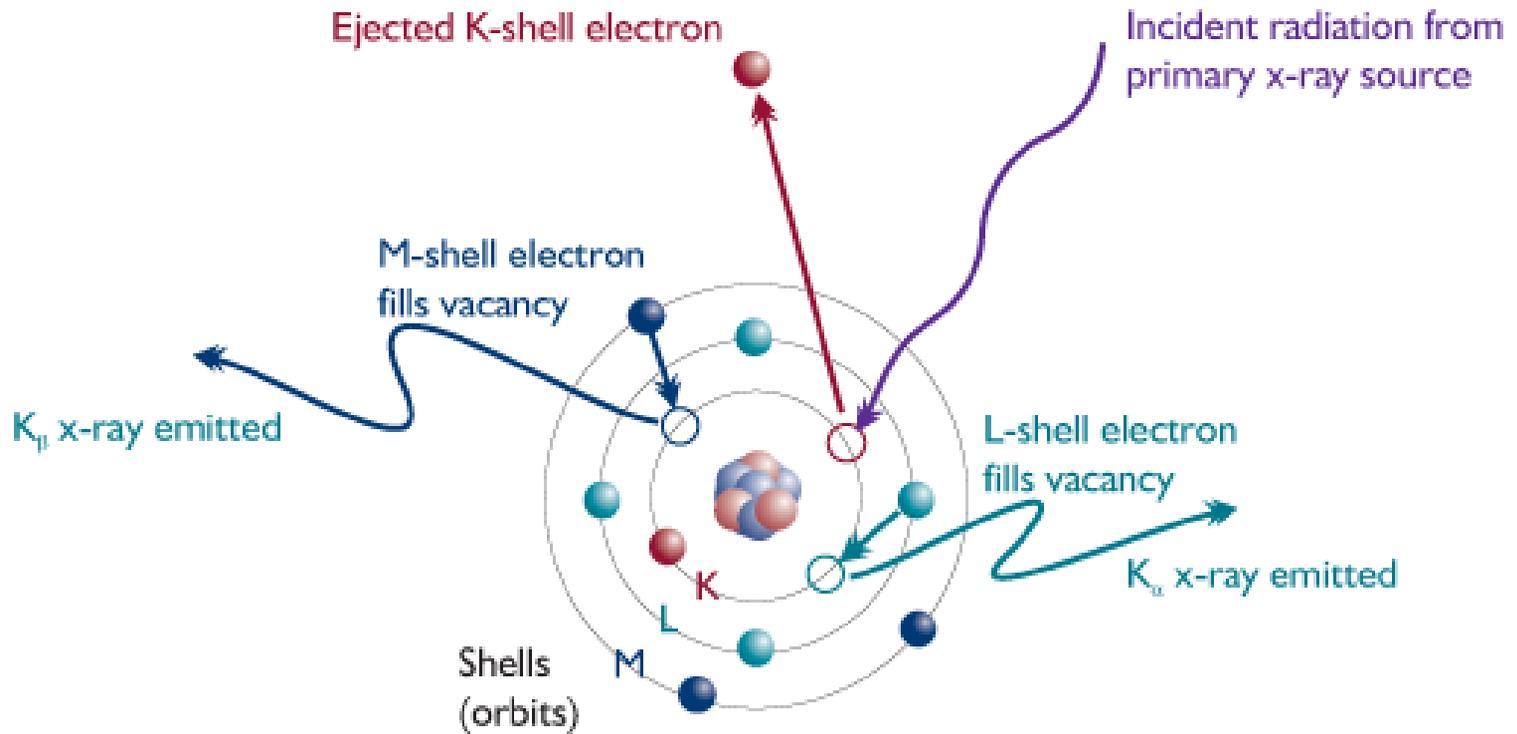
- |                         |                         |
|-------------------------|-------------------------|
| - <b>Bore</b> (B)       | - <b>Chrome</b> (Cr)    |
| - <b>Cobalt</b> (Co)    | - <b>Cuivre</b> (Cu)    |
| - <b>Fer</b> (Fe)       | - <b>Fluor</b> (F)      |
| - <b>Iode</b> (I)       | - <b>Manganèse</b> (Mn) |
| - <b>Molybdène</b> (Mo) | - <b>Sélénium</b> (Se)  |
| - <b>Silicium</b> (Si)  | - <b>Etain</b> (Sn)     |
| - <b>Vanadium</b> (V)   | - <b>Zinc</b> (Zn)      |



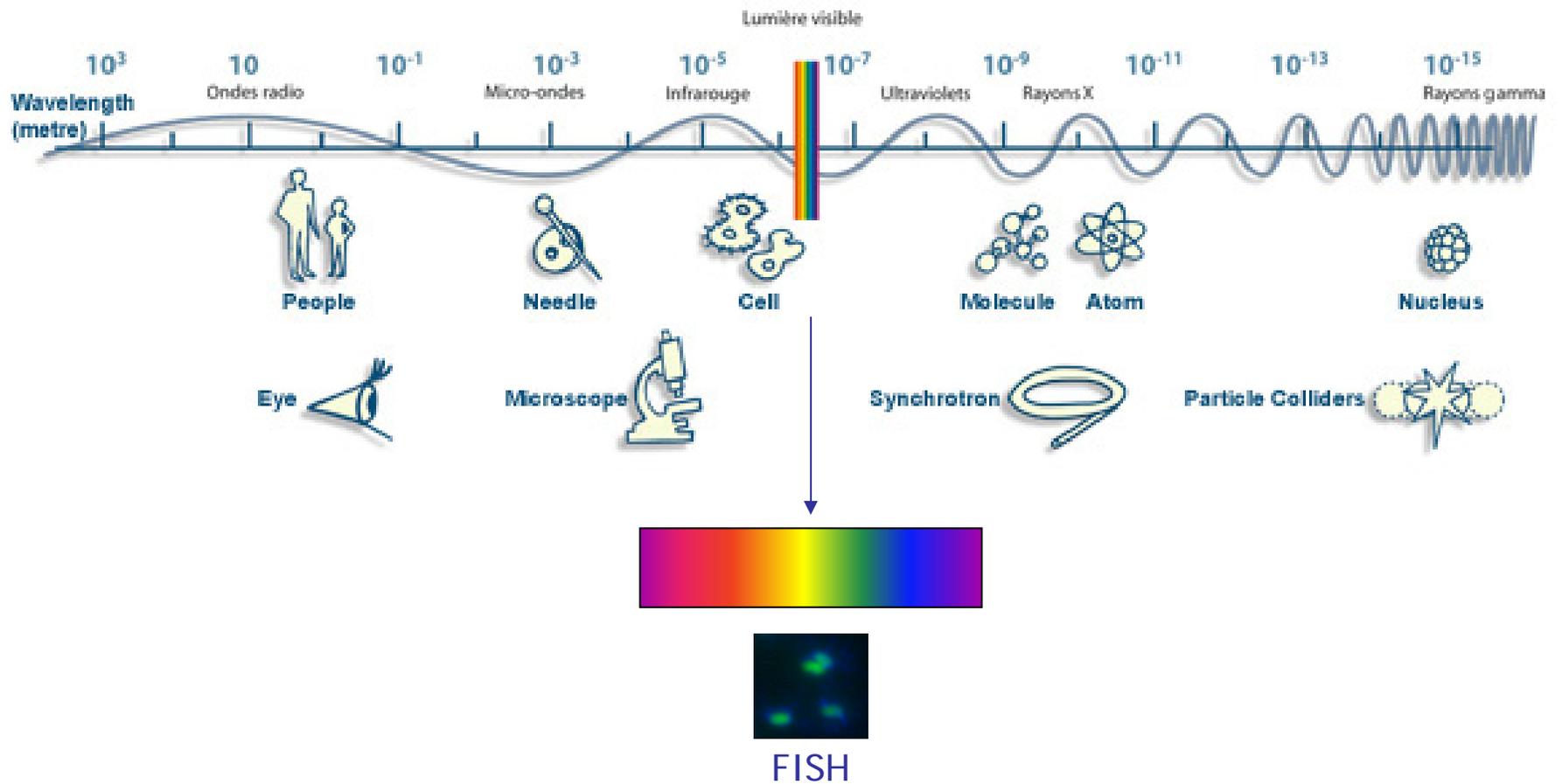
*D. radiodurans*



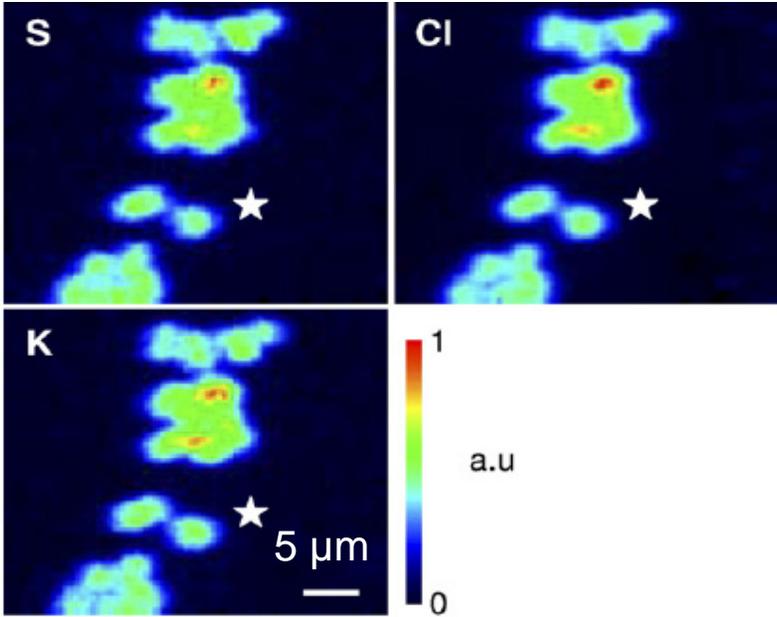
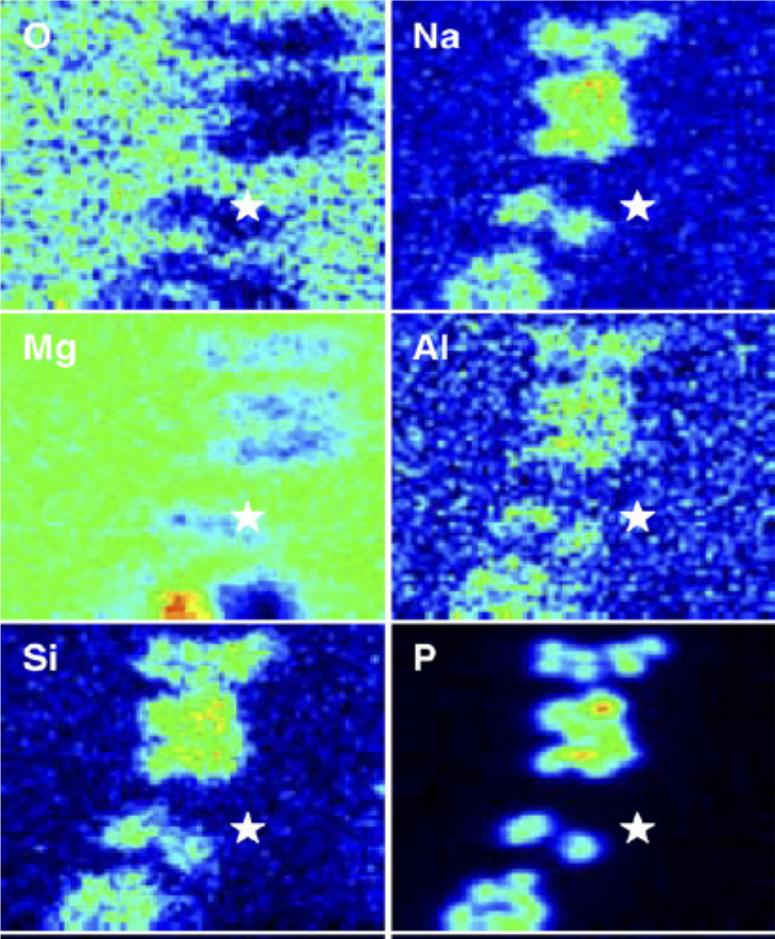
*P. fluorescens*



# Spectre électromagnétique

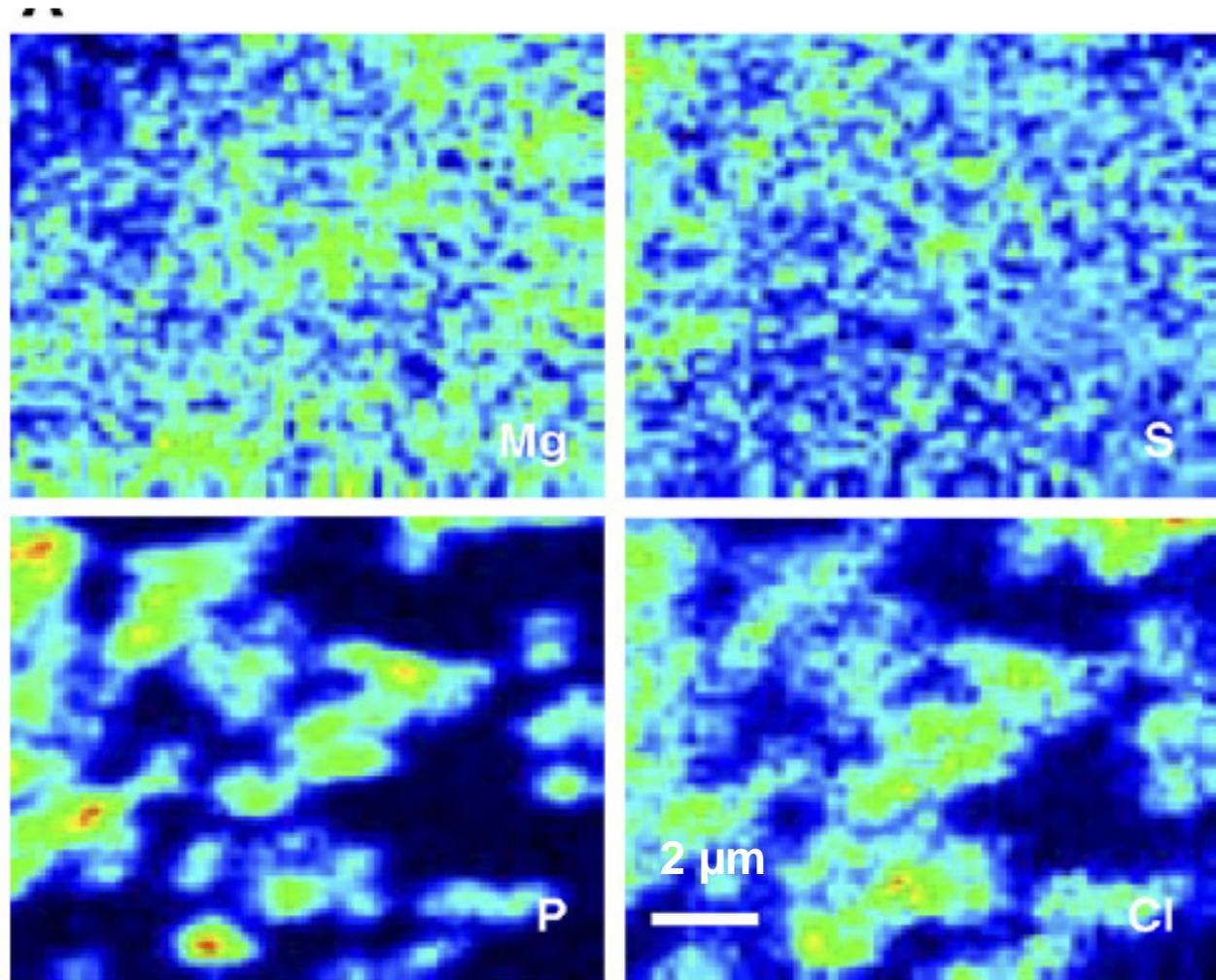


Sur un carbonate



*D. radiodurans*

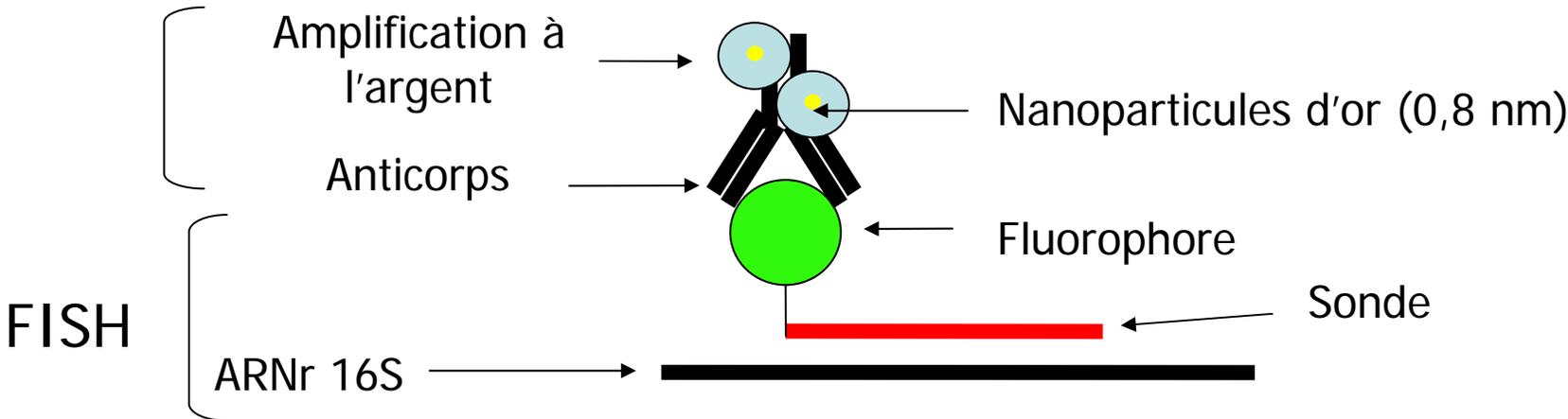
Sur un basalte



*D. radiodurans*

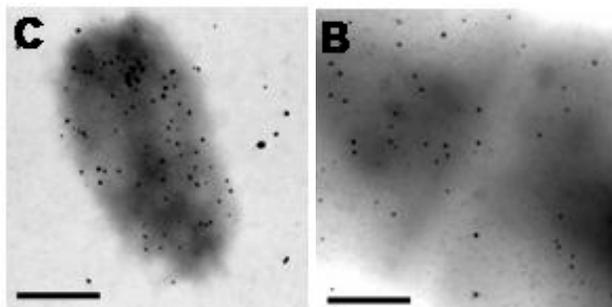
Approche couplée

# Immuno-détection à l'or

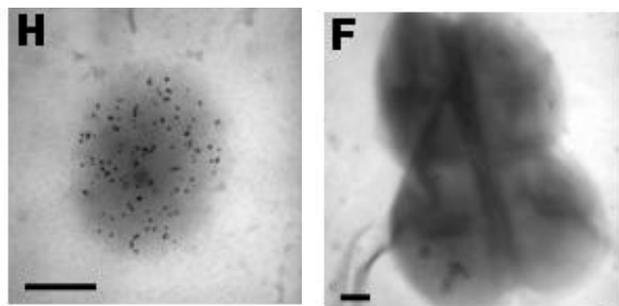


## TEM

Sonde EUB338 (Eubactéries)



Sonde GAM42a,  
spécifique des  $\gamma$ protéobactéries



*E. coli*

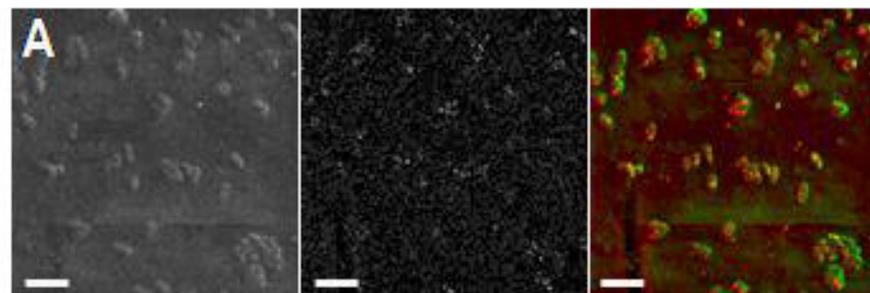
*D. radiodurans*

— 500nm

## SEM

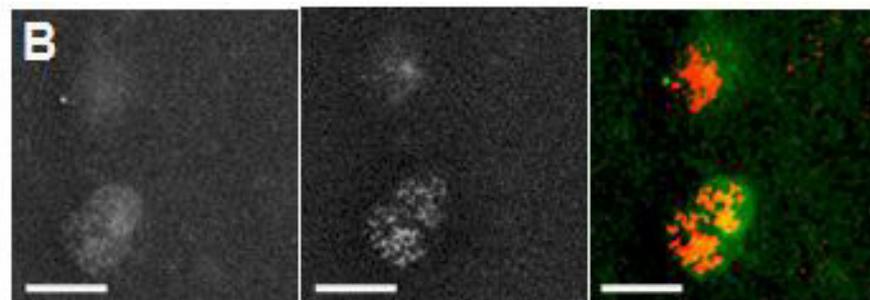
*E. coli*

EUB338

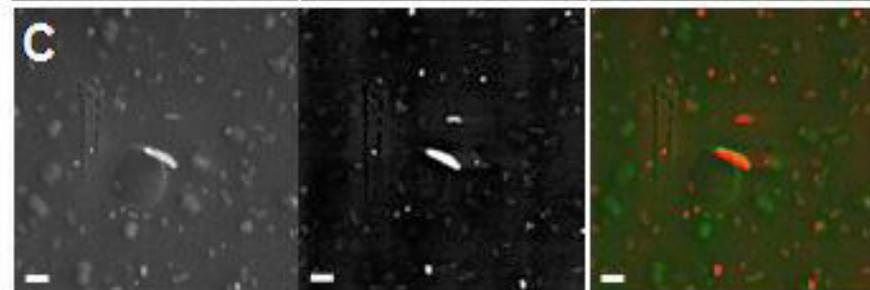


*D. radiodurans*

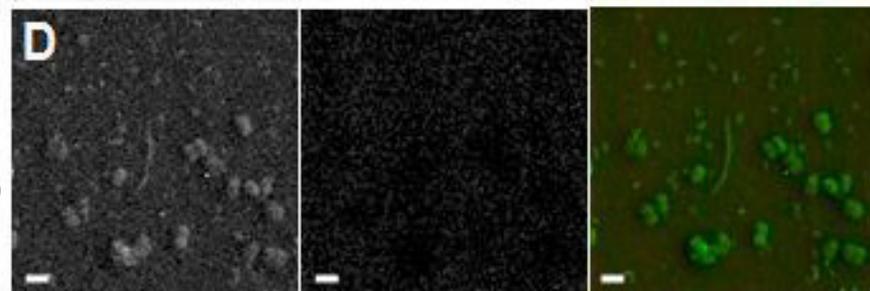
EUB338



GAM42a

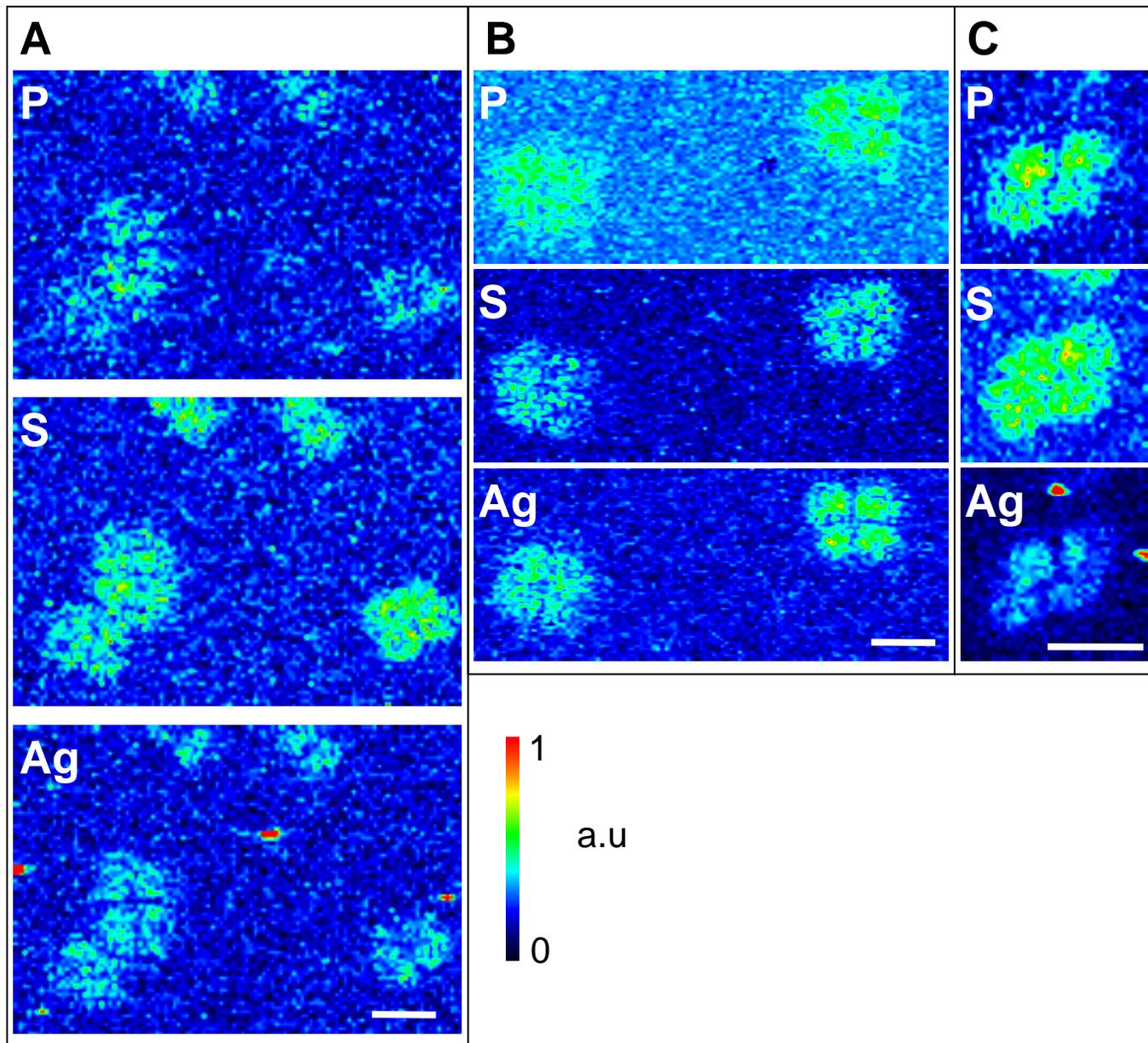


NONEUB  
(aspécifique)



e<sup>-</sup> secondaires

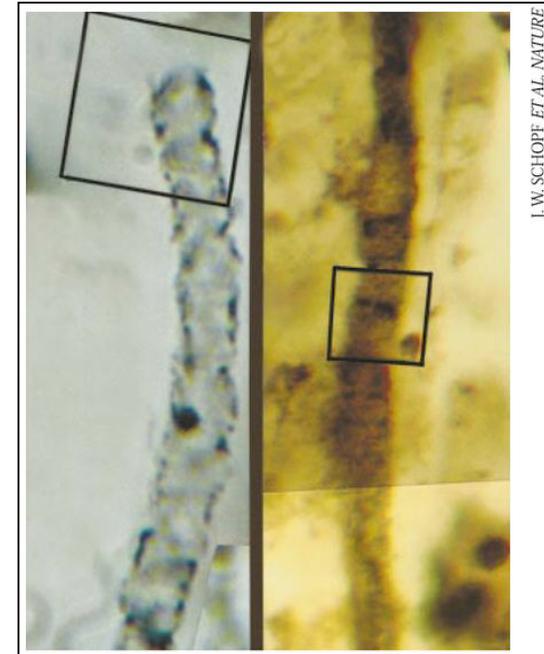
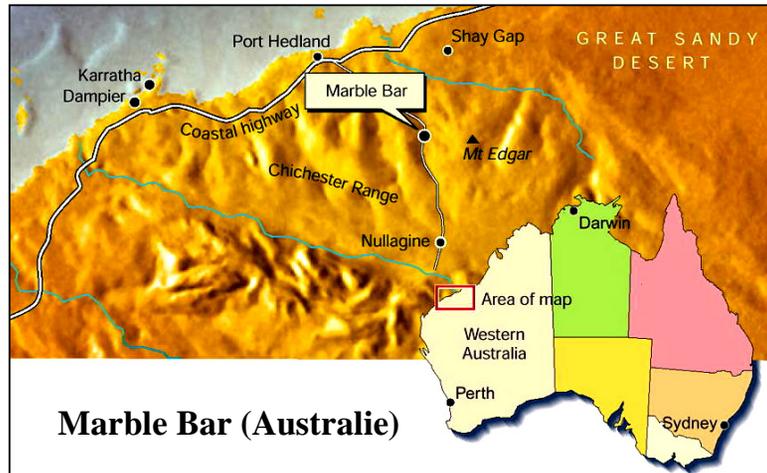
e<sup>-</sup> rétrodiffusés



Et les systèmes anciens ?

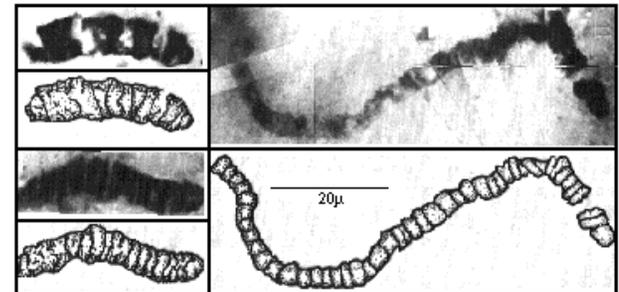
## Controverse sur les premières traces de vie

structures filamenteuses de 3,5 Ga  
découvertes en Australie à Marble Bar



**UCLA - restes fossiles de cyanobactéries ?**  
J.W. Schopf et al. Nature, 416 (2002) 75

**Oxford - minéraux liés à une activité hydrothermale ?**  
M.D. Brasier et al. Nature, 416 (2002) 76



**Comment prouver l'existence de bactéries en l'absence de fossiles ?**

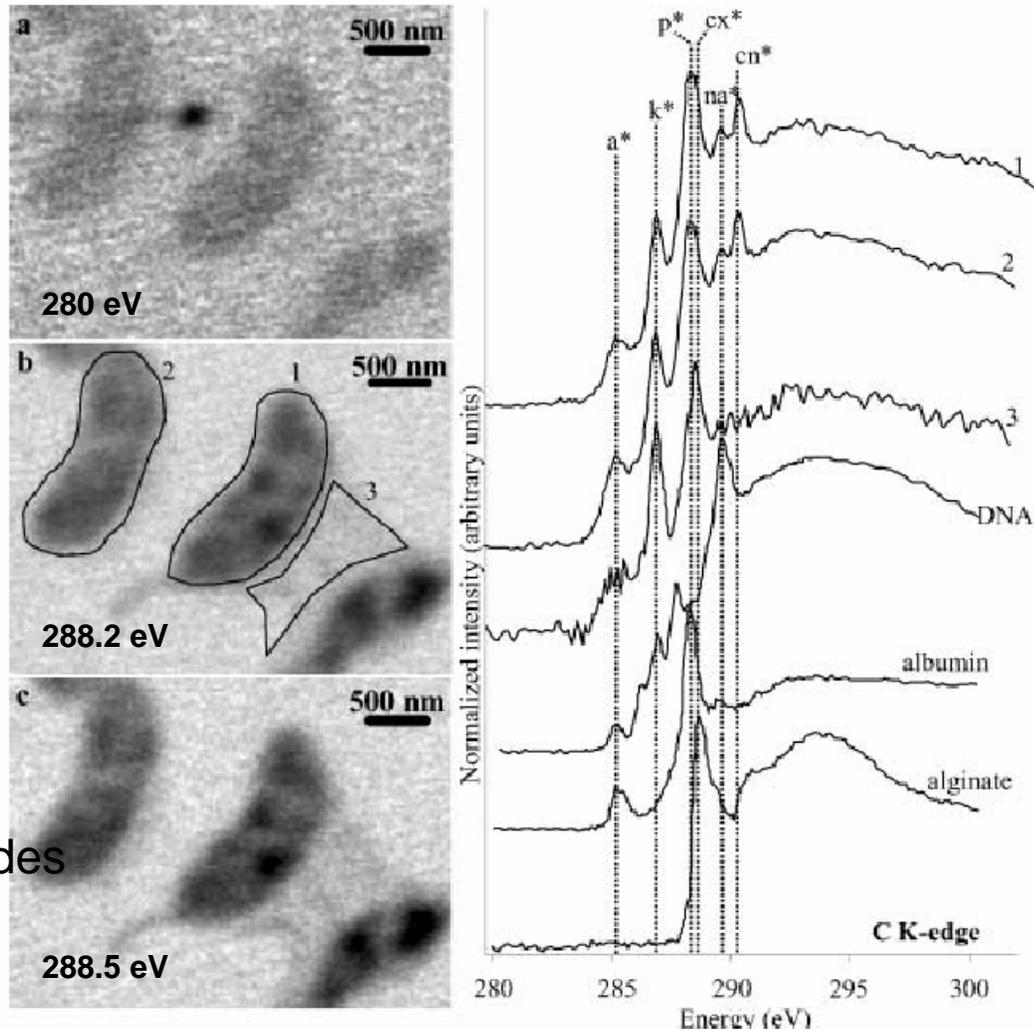
**Intérêt de la biominéralisation**

# Composés moléculaires :

- polysaccharides,
- protéines (dont les enzymes),
- acides nucléiques,
- lipides,
- ...

jouent un rôle important dans la cellule (structure et fonctionnement) et son adhérence (influence la chimie de la surface et l'interaction avec d'autres cellules attachées).

## Seuil K du C



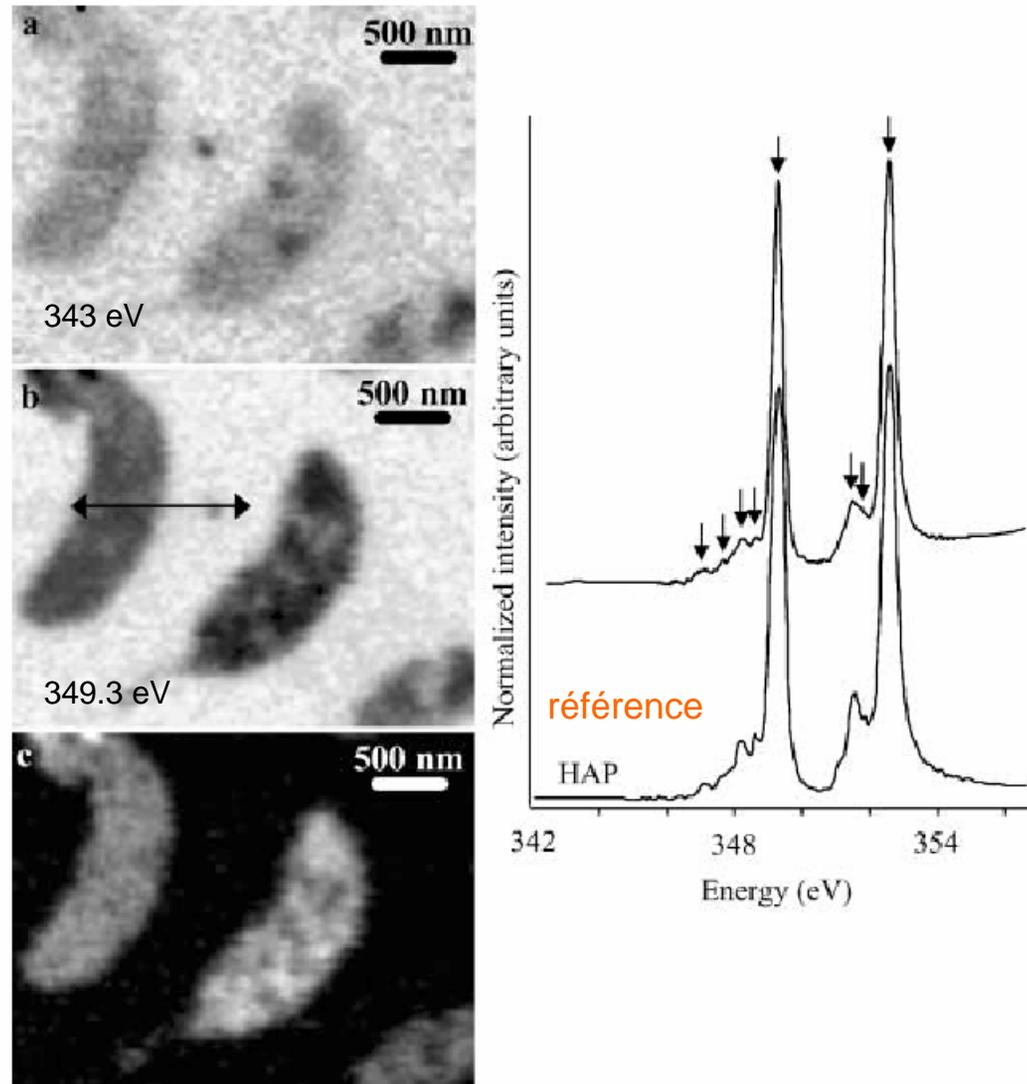
**Fig. 4** Spectromicroscopy on *C. crescentus* cells shown in Figs 2 and 3 at the carbon K-edge. (A) STXM image taken at 280 eV, which is below the carbon K-edge. (B) STXM image taken at 288.2 eV (i.e. the resonance energy of amide carbonyl groups in proteins). Dark spots are related to thickness effects. An appendage is observed on the cell in the middle of the picture and was observed for many other cells. (C) Image taken at 288.5 eV (i.e. the resonance energy of carboxylic groups in polysaccharides). The polymeric material between the two cells on the right hand side is at maximum visibility at this energy. (D) Carbon K-edge NEXAFS spectra of two *C. crescentus* cells (spectra 1 and 2), and the EPS (spectrum 3) resulting from the image stack on the area depicted in Fig. 4 (A). All the areas are outlined on Fig. 4B. The cell spectra were identical for all the areas tested. Reference spectra of DNA, albumin (taken as a model for protein), and alginate (taken as a model for acidic polysaccharides) are shown for comparison. Labelling of the peaks: a\*, aromatic groups at 285.2 eV; k\*, ketonic/phenolic groups at 286.8 eV; p\*, amide carbonyl group (peptidic bond) at 288.2 eV; cx\*, carboxylic groups at 288.5 eV; na\*, C = O groups in nucleic acids at 289.5 eV; cn\*, carbonate groups at 290.3 eV.

Protéines  
(groupe carbonyle)

Polysaccharides  
(groupe carboxyle)

Chemical characterization at the submicrometer scale is necessary to infer the biogenicity of natural objects, including fossilized microorganisms.

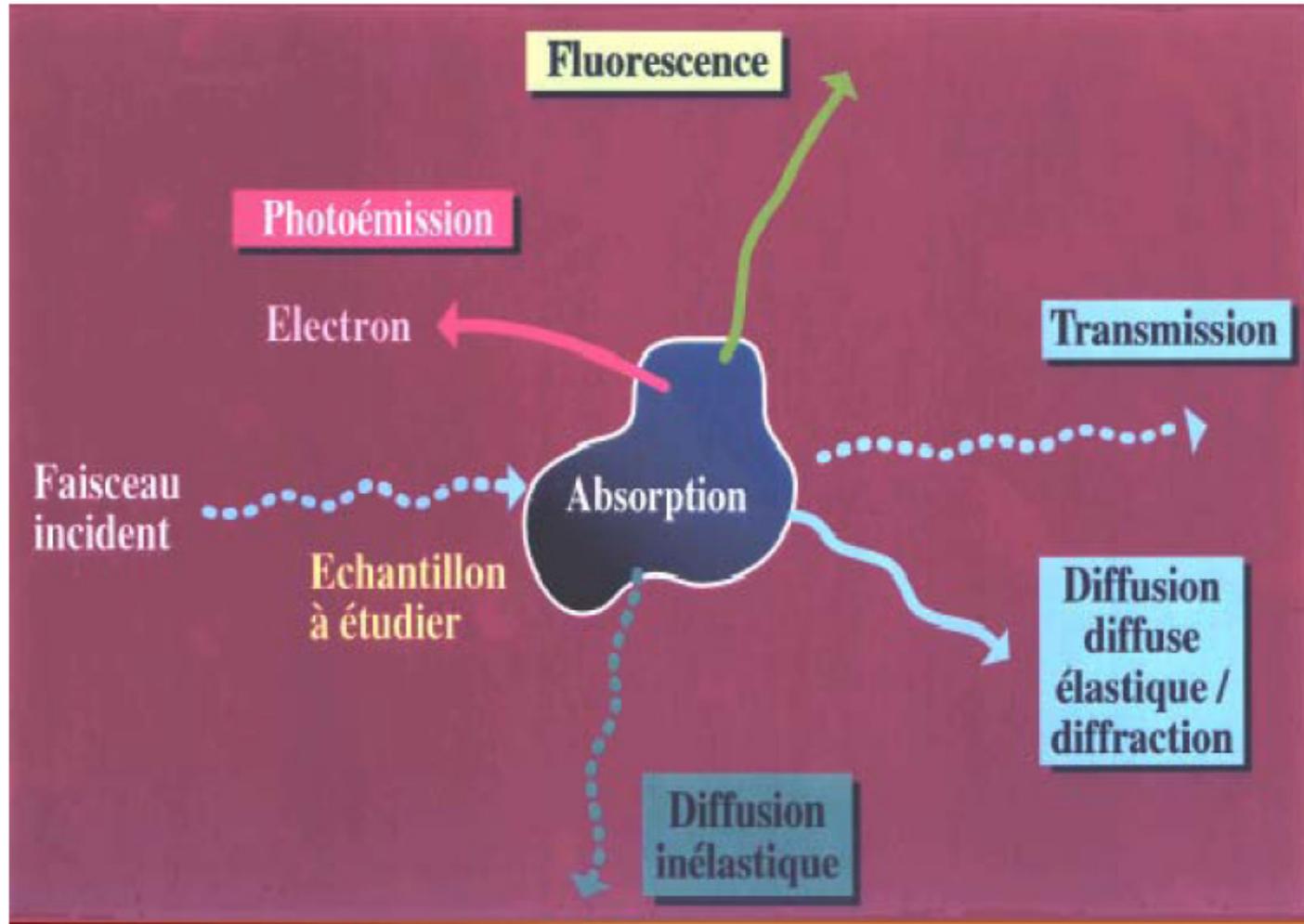
## Seuil L du Ca



**Fig. 2** Spectromicroscopy on *Caulobacter crescentus* incubated for 3 weeks in calcium rich (8 mM) growth medium at the calcium  $L_{2,3}$ -edge. (A) STXM image of *C. crescentus* cells at 343 eV (below the Ca  $L_{2,3}$  edge). (B) STXM image of the same area at 349.3 eV showing the kidney bean shaped cells. The arrow shows the location where the line scan was processed, i.e. the trace of the analysis spots. Half of the spots are inside the bacterium, the other half are on the carbon-film providing IO. (C) Calcium map (generated by subtracting Fig. 2 (A) from Fig. 2 (B)) showing the calcium enrichment of cells with small variations in intensity between the two cells observed related to slight differences in calcium enrichment. (D) Calcium  $L_{2,3}$ -edge NEXAFS spectra of a *C. crescentus* cell shown in B. The spectra were identical for all the areas tested. Peak positions were 347.1, 347.7, 348.2, 348.6, 349.3, 351.5, and 352.6. A reference hydroxyapatite calcium  $L_{2,3}$ -edge NEXAFS spectrum is shown for comparison and displays the same peaks (see arrows).

Repartition en Ca  
(b-a)

# Les interactions lumière/électrons de la matière



Grand intérêt des techniques de  
spectroscopies  
(X, Raman, IR, ....)