



Des milieux extrêmes bien vivants

Principaux producteurs primaires sur notre planète, les micro-organismes sont, grâce à leur diversité, capables de coloniser les environnements les plus hostiles en termes de déficit hydrique, de température, de salinité, de pression et de pH. Des déserts arides aux profondeurs des océans, rencontre avec une surprenante diversité microbienne qui a su s'adapter à tout.

© P. THOMPSON/BSIP

Les auteurs

Mohamed Jebbar*, Anne Godfroy* et Thierry Heulin**

* Laboratoire de microbiologie des environnements extrêmes, UMR 6197 CNRS, Université de Bretagne Occidentale, Ifremer

** Laboratoire d'écologie microbienne de la rhizosphère et environnements extrêmes UMR 7265 CEA, CNRS, Université Aix-Marseille, Institut de biologie environnementale et de biotechnologie CEA Cadarache, Saint-Paul-lez-Durance

Le caractère « extrémophile » d'un milieu naturel se définissant par l'existence d'un ou plusieurs facteurs limitant la croissance et le développement de tous les organismes vivants, les déserts constituent un modèle de milieu extrême pour la vie, dans la mesure où le manque d'eau limite la croissance et le développement de tous les organismes vivants pendant une grande partie de la journée. Dans les déserts chauds et secs, cette absence d'eau est liée à l'excès de lumière et de chaleur qui sévit du lever au coucher du soleil.

Les déserts chauds et secs sont les déserts les plus étendus à la surface de la Terre, se partageant quelque 50 millions de km², soit un tiers des terres émergées. Ils sont principalement localisés au voisinage des tropiques, celui du Cancer pour le Sahara, et celui du Capricorne pour le Namib et le Kalahari. Avec 9 millions de km², le Sahara est le désert chaud et sec le plus vaste, qui s'étend de la Mauritanie à l'Égypte et se prolonge jusqu'au désert de Gobi, en Asie.

Le climat du Sahara a connu différentes phases contrastées, incluant une désertification ancienne, il y a 7 millions d'années (Ma), à la charnière entre les ères du Miocène et du Pliocène, puis un assèchement total entre -70 000 et -40 000 ans BP^{*1}, avec la formation d'immenses ergs^{*2}. Entre -40 000 et -30 000 ans BP, le Sahara fut soumis à une phase humide suivie d'une phase d'aridité culminant vers -19 000 ans BP : de grands ergs tapissaient alors une grande partie du Sénégal et du Tchad. Durant l'Holocène (-9 000 à -4 500 ans BP), une nouvelle phase humide survint, avec une remontée des espaces sahéliens vers le nord et le développement d'une savane peuplée par une faune variée d'éléphants, de girafes et de buffles. Le désert tel que nous le connaissons actuellement s'installe à partir de -2 700 ans BP.

*1 Before present : datation par rapport à l'époque actuelle

*2 Désert de dunes

UN DÉSERT PAS SI STÉRILE

Dans le cadre d'un projet de recherche soutenu par le programme Geomex du CNRS, de 2001 à 2003, l'équipe d'Écologie microbienne de la rhizosphère et environnements extrêmes (Institut de biologie environnementale et de biotechnologie) a étudié deux sites sahariens. Le premier est une dune de l'est marocain, à Merzouga, à la frontière avec l'Algérie, sur laquelle des analyses minéralogiques et microbiologiques ont été réalisées (1). Sur cette dune, le sable est majoritairement composé de grains de quartz d'un diamètre moyen de 300 µm. Chaque gramme de sable en contient environ 20 000. Par marquage fluorescent de l'ADN selon la méthode Syto9^{*3}, en moyenne 10 cellules bactériennes ont été découvertes à la surface de chaque grain, soit environ

*3 Coloration fluorescente verte des acides nucléiques des bactéries dont la membrane est intacte. On considère donc ces bactéries comme vivantes.

220 000 bactéries par gramme de sable. Grâce à une technique originale « grain par grain », 14 % des bactéries totales ont pu être cultivées sur boîte de Petri.

L'analyse globale de la diversité des bactéries, sous forme d'isolats ou révélées par clonage-séquençage du gène codant l'ADN ribosomique (ADNr) 16S, révèle la présence des grands groupes bactériens : *Firmicutes*, *Actinobacteria* et *Proteobacteria*. D'autres groupes tels que les CFB (*Cytophaga-Flexibacter-Bacteroides*), les bactéries GNS (*Green Non-Sulfur*), les *Acidobacteria* et *Planctomycetes* ont également été mis en évidence. L'analyse de la diversité bactérienne par l'approche moléculaire a permis de montrer que 70 à 80 % des séquences d'ADNr 16S ne correspondent à aucune espèce bactérienne décrite à ce jour, et d'estimer la taille de la diversité entre 400 et 1 400 OTU*⁴ (1). Le nombre de 220 000 bactéries par gramme de sable est nettement plus faible que dans le sol de milieu tempéré – environ 10⁸ bactéries par gramme de sol –, alors que la diversité est à peu près comparable (photo ci-dessous). En milieu désertique chaud et sec, la très faible teneur en matière organique (moins d'1 mg/g de sable) et la limitation en eau n'affectent pas la diversité des espèces mais très nettement leurs effectifs moyens – une centaine d'individus par espèce.

Le second site étudié est celui de Tataouine, au sud-est de la Tunisie. Les conclusions concernant la diversité des espèces bactériennes sont identiques. Les genres et les espèces identifiés appartiennent en grande majorité aux *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* et CFB. Sur ces échantillons, la présence d'archées, essentiellement des *Crenarchaeota* non thermophiles, a également été mise en évidence (2). Sur le site de Tataouine, deux études ont permis de révéler une grande diversité de cyanobactéries, avec la détection de genres tels que *Oscillatoria*, *Anabaena*, *Nostoc* et *Symploca* (2,3). Cette diversité des cyanobactéries des « croûtes », se développant à la

surface des déserts, est bien documentée, en particulier dans le cas du désert de l'Utah, sur le plateau du Colorado aux États-Unis (4). Il reste cependant à évaluer dans quelle mesure ces bactéries photosynthétiques, donc autotrophes pour le carbone, sont capables de vivre en association avec des espèces bactériennes hétérotrophes pour la plupart d'entre elles.

La diversité bactérienne dans les déserts chauds et secs est donc dominée par des espèces appartenant à des phylums et des genres dont les mécanismes de tolérance à la dessiccation sont connus – *Firmicutes* et *Actinobacteria* s'en protègent par sporulation, *Deinococcus* en réparant son ADN –, mais aussi aux *Proteobacteria*, dont le seul mécanisme connu d'adaptation au manque d'eau est l'enkystement. Un nouveau genre bactérien a ainsi été isolé du sable de Tataouine, qui possède cette capacité à s'enkyster.

UNE BACTÉRIE ADAPTÉE AUX CONDITIONS DÉSERTIQUES

Dans le sable de Tataouine, une bactérie responsable de l'altération des fragments de la météorite tombée sur le site en 1931 était activement recherchée (5). À partir d'un fragment de la météorite altérée, une bactérie candidate a été isolée, identifiée comme appartenant à un nouveau genre et une nouvelle espèce bactériens : *Ramlibacter tataouinensis* (6,7). *In vitro*, cette bactérie est capable de coloniser et d'altérer des fragments stériles de pyroxène, un minéral silicaté composant la météorite et d'induire des biominéralisations (8,9).

Le cycle cellulaire original de cette bactérie comprend deux phases pouvant expliquer son mode de reproduction et de dissémination : une phase de multiplication au cours de laquelle un kyste*⁵ se divise pour en former deux, et une phase de dissémination au cours de laquelle un kyste se différencie en bâtonnet, capable de se diviser et de se déplacer, puis une redifférenciation du bâtonnet

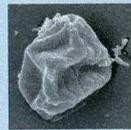
*⁴ Operational Taxonomic Units ou équivalent-espèces : ensemble des clones dont le gène codant l'ARNr 16S a une homologie de séquence supérieure à 95 %

*⁵ Cellule bactérienne capable de tolérer la dessiccation

record de température

Pyrolobus fumarii

Isolée d'un site hydrothermal de la dorsale médio atlantique, cette archée anaérobie stricte est capable de se diviser jusqu'à 113 °C.



© ANDERSON I ET AL. (2011) STAND GENOMIC SCI 4, 3

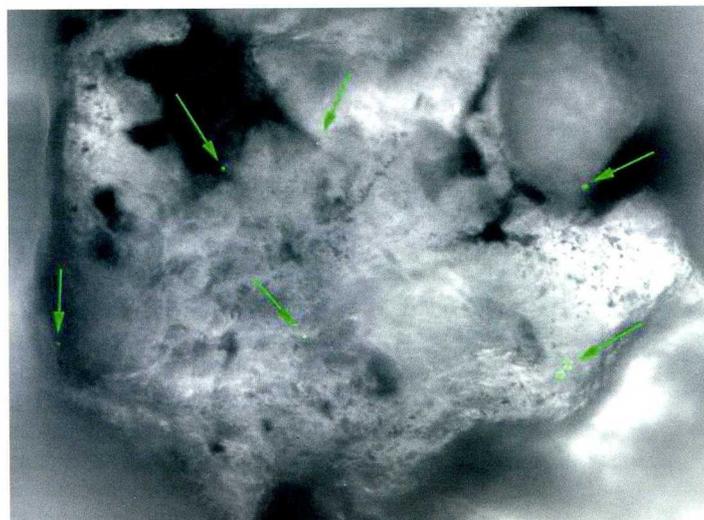
Blöchl E et al. (1997) *Extremophiles* 1, 14-21

en kyste. Ce dernier peut alors se diviser et former une nouvelle colonie satellite. Chez cette bactérie, la forme sensible à la dessiccation (bâtonnet) permet la dissémination et la forme tolérante (kyste) est capable de se diviser durant l'étroite « fenêtre » de disponibilité de l'eau, lors de la rosée du matin. Il s'agit du seul cas connu de division cellulaire sous forme de kyste chez les bactéries. L'analyse du génome de *R. tataouinensis* a révélé de nombreux gènes codant des caractères originaux, en particulier un gène codant une horloge circadienne et plusieurs senseurs de la lumière (bactériophytochromes) (10). Cette régulation inédite du cycle cellulaire par la lumière chez une bactérie non photosynthétique est en cours d'étude.

TRÉSOR CACHÉ

Loin d'être stériles, les déserts chauds et secs, à la fois pauvres en éléments nutritifs (carbone, azote) et soumis à différents stress

Par fluorescence, on recense environ 10±1 bactéries à la surface de chaque grain, soit environ 220 000 bactéries par gramme de sable.

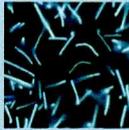


© T. HEULIN

record de température pour produire du méthane

Methanopyrus kandleri

C'est l'organisme producteur de méthane le plus thermophile connu. Cette archée vit à des températures comprises entre 84 et 110 °C, 98 °C étant sa température optimale. Elle a été trouvée à 200 mètres de profondeur à proximité des côtes volcaniques d'Islande, mais aussi à 2 000 m de profondeur dans les sédiments chauffés par des fluides hydrothermaux du bassin de Guaymas, dans le Golfe de Californie. L'hydrogène lui sert de source d'énergie et elle se nourrit de gaz carbonique.



© PM POON VIA WIKIMEDIA COMMONS

Burggraf S et al. (1991) *System Appl Microbiol* 14, 346-51

(hydrique, UV, température) hébergent une très grande diversité de micro-organismes. Cette diversité ne révèle que très peu d'espèces bactériennes et d'archées thermophiles, ce qui indique une adaptation des micro-organismes au stress hydrique mais pas ou peu à la température, pourtant très élevée dans cet écosystème. L'eau, élément indispensable pour les divisions cellulaires, n'étant disponible qu'aux heures fraîches de la journée (la rosée de fin de nuit), il est possible que les bactéries ne soient pas thermophiles mais restent passives lors des fortes chaleurs en réponse à son absence.

L'analyse de la grande diversité des micro-organismes des déserts chauds et secs laisse penser qu'elle représente un véritable trésor potentiel, non seulement pour l'étude de nouveaux mécanismes d'adaptation au stress hydrique qui restent à élucider, mais également pour la découverte de nouvelles molécules d'intérêts médical, alimentaire et agronomique.

DES KILOMÈTRES SOUS LES MERS

La découverte de micro-organismes à 11 kilomètres de profondeur dans la fosse des Mariannes, au large des Philippines (11), au niveau des fumeurs noirs des dorsales océaniques (12) et dans les sédiments marins profonds, à 1,6 kilomètre sous le plancher

océanique (13), a permis d'élargir les limites géographiques de la vie sur Terre.

Les phénomènes hydrothermaux océaniques sont une conséquence indirecte des phénomènes d'extension et d'accrétion des plaques tectoniques. L'eau de mer froide (2 °C) s'infiltré de plusieurs kilomètres dans les anfractuosités de la croûte océanique et s'échauffe à proximité du magma. Le fluide chaud remonte vers le plancher océanique sous l'effet de la pression où il lessive les roches, s'acidifie et s'enrichit en minéraux. Le fluide hydrothermal ainsi formé rejaillit au niveau du plancher océanique en des points focalisés constituant les sources hydrothermales. Ces fluides peuvent atteindre 400 °C, ont un pH généralement acide, sont anoxiques et contiennent de fortes concentrations en gaz dissous (H₂S, CH₄, CO, CO₂, H₂) et en ions métalliques. Au contact de l'eau de mer (froide, légèrement alcaline et oxygénée), les minéraux précipitent, pour former des édifices minéraux : les fumeurs noirs. Autour de ces cheminées hydrothermales, la vie (moules, vers géants, crevettes...) s'organise en cercle concentriques. Dans ces écosystèmes, le moteur de la vie n'est pas l'énergie lumineuse du soleil mais celle des éléments chimiques contenus dans le fluide surchauffé. Et ce sont des micro-organismes capables de fixer le CO₂ qui sont le premier maillon de la chaîne alimentaire locale,

pour fabriquer leurs constituants cellulaires à partir de cette énergie chimique.

Les édifices hydrothermaux sont des structures minérales poreuses qui hébergent des micro-organismes extraordinaires, dont certains sont capables de se multiplier dans des conditions très inhospitalières. Dans les fumeurs noirs actifs, les communautés microbiennes sont soumises à un fort gradient physico-chimique dû au mélange entre le fluide hydrothermal acide, réduit et chaud et l'eau de mer froide et oxygénée. Ce mélange turbulent provoque le passage de conditions anaérobies strictes à des conditions aérobies, en même temps qu'une baisse de la température. À ces variations de l'habitat sont associées des modifications de la nature des donneurs et des accepteurs d'électrons, variations qui conditionnent le métabolisme des communautés microbiennes. En moins de 30 ans, les microbiologistes ont isolé et décrit plus d'une centaine de nouvelles espèces de micro-organismes (archées et bactéries) impliqués dans la plupart des grands cycles biogéochimiques, et capables, pour certains, de se développer à plus de 110 °C. Grâce aux techniques moléculaires de pointes similaires à celles utilisées en diagnostic médical ou en médecine légale, il est apparu que les espèces décrites ne représentent qu'une toute petite fraction de cette biodiversité profonde.

record de taille du génome

Nanoarchaeum equitans

Cette minuscule archée vit en symbiose avec une autre archée, *Ignicoccus hospitalis* (en clair sur la photo). Son génome est un des plus petits (0,49 Mpb) et des plus compacts (95 % de ses gènes codent des protéines) jamais décrits.

Aucun gène codant des fonctions métaboliques n'a pu être identifié, ces fonctions étant vraisemblablement assurées par son hôte, *Ignicoccus*, lequel ne possède que les gènes nécessaires aux processus moléculaires centraux (réplication, transcription et traduction).



© K. STETTER

Jahn U et al. (2008) *J Bacteriol* 190, 1743-50

SOUS LA CROÛTE Océanique

Le plancher océanique héberge des formes de vie sur plusieurs kilomètres de profondeur. S'il est d'ores et déjà établi que les communautés microbiennes situées sous le plancher océanique (sub-surface) sont dignes de rivaliser avec les communautés de la surface de la Terre, à la fois par leur abondance, leur diversité et leur complexité, l'exploration de cette biosphère profonde reste une des grandes frontières de l'exploration scientifique. Elles se développent loin de toute source d'énergie lumineuse, dans un milieu pauvre en nutriments et subissent des contraintes extrêmes de pression et de température. Une caractéristique commune à tous les micro-organismes vivant dans des conditions physico-chimiques extrêmes, notamment dans la biosphère profonde, est le stress énergétique : la quasi-totalité de l'énergie métaboliquement disponible est en effet consommée pour les besoins de la maintenance et l'entretien des structures cellulaires essentielles, des biomolécules, des enzymes et des voies métaboliques. Ce problème est aggravé par les rendements énergétiques pauvres de nombreux métabolismes microbiens, liés principalement aux conditions chimiques extrêmes pour les accepteurs d'électrons (O_2 , NO_3^- et SO_4^{2-}), et par une biodisponibilité limitée des donneurs d'électrons (H_2 , CH_4 , H_2S , H_2O , fer, cuivre, acides organiques...) (14).

L'étude de la diversité microbienne des sédiments marins profonds a été principalement abordée par des approches moléculaires plutôt que culturelles, encore difficiles à mettre en œuvre pour ces écosystèmes distants et singuliers. L'inventaire moléculaire est majoritairement basé sur l'utilisation du gène codant l'ARN ribosomique 16S, des gènes fonctionnels spécifiques de certains métabolismes, tels le gène *mcrA* codant la méthyl coenzyme-M réductase, essentielle à la méthanogénèse, et le gène *dsrA*, codant la *dissimilatory sulfite reductase*, enzyme importante dans la sulfato-réduction catalyse la réduction des sulfites (SO_3^{2-}) en sulfure d'hydrogène (H_2S). Les micro-organismes capables de cette dernière catalyse abondent dans

de nombreux écosystèmes, y compris dans les sédiments marins profonds. À ce jour, plusieurs études ont montré la présence dans ces sédiments de virus et de micro-organismes appartenant aux trois domaines du vivant (*Archaea*, *Bacteria* et *Eukarya*). L'approche moléculaire a permis d'identifier des bactéries affiliées au groupe des protéobactéries (*Alpha-*, *Beta-*, *Delta-*, *Gamma-* et *Epsilonproteobacteria*) bien différenciés de ceux présents dans la colonne d'eau*6 (15). Les lignées les plus abondantes sont les *Gammaproteobacteria* et le groupe *Chloroflexi*, caractéristiques des sédiments pauvres en matière organique, ainsi que la division candidate*7 JS1 (*Japan Sea 1*) rencontrée, à l'inverse, dans les sédiments riches (15). Si la proportion de souches isolées et cultivées à partir des sédiments marins profonds reste faible (entre 0,1 et 0,25 %), plusieurs bactéries généralistes capables d'utiliser une large gamme de sources de carbone, de donneurs et d'accepteurs d'électrons ont été isolées, appartenant notamment aux genres *Bacillus*, *Rhizobium*, *Carnobacterium*, *Clostridium*, *Marinibacillus*, *Pseudomonas*, *Acetobacterium* et *Bacteroidetes* (16,17). Quelques bactéries spécialistes, notamment les sulfato-réductrices, ont également été décelées : la bactérie mésophile et piézophile *Desulfovibrio profundus* (18) et les bactéries thermophiles *Thermosediminibacter oceani* et *Thermosediminibacter litoriperuensis* (19).

Chez les Archées, une large fraction de lignées d'incultivées, pour la plupart endémiques des sédiments de subsurface, a été identifiée. Il s'agit des divisions candidates MCG (*Miscellaneous Crenarchaeotic Group*), MBG-B (*Marine Benthic Group B*), MG-I (*Marine Group I*), MBG-A et MHVG (*Marine Hydrothermal Vent Group*) du phylum des *Crenarchaeota*, et les divisions MBG-D, SAGMEG (*South African Gold Mine Groups 1 et 2*), quelques méthanogènes, des ANME (*ANAerobicoxidation of METHane*)

*6 Génome de phage ou de virus intégré à celui d'une cellule hôte

*7 Lignée pour laquelle il n'existe pas encore de représentant cultivé

record de pression

Pyrococcus yayanosii

Isolée du site hydrothermal d'Ashadze, le plus profonds exploré à ce jour, cette archée est la plus hyperthermophile et piézophile jamais décrite. Incapable de pousser à une pression inférieure à 200 atmosphères, elle peut se développer jusqu'à une pression de 1 200 atmosphères.



© CAMPAGNE EXOMAR 2005 - IFREMER

Birrien JL et al. (2011) *Int J Syst Evol Microbiol* 61, 2827-31

et des hyperthermophiles du phylum *Euryarchaeota* (15). Parmi les archées cultivées et issues des sédiments de subsurface, plusieurs espèces méthanogènes appartenant aux genres *Methanoculleus*, *Methanococcus*, *Methanosarcina*, *Methanobacterium*, *Methanococcoides* et *Methanobrevibacter* ont été isolées (20,21).

Les différentes études conduites sur des sédiments marins superficiels ou de subsurface ont aussi révélé la présence d'une grande diversité de micro-eucaryotes, comme des protistes des groupes *Alveolata*, *Chlorophyta*, *Euglenozoa*, *Heterokonta*, *Rhizaria*, *Rhodophyta* et *Stramenopiles*, ainsi que celle de champignons du groupe *Basidiomycota* (22,23).

Enfin, des virus ont été découverts dans des cultures d'isolats bactériens de *Proteobacteria*, de *Firmicutes*, d'*Actinobacteria* et de *Bacteroidetes* provenant des sédiments de subsurface. Il s'agit de prophages*8 des familles *Myoviridae* et *Siphoviridae*. Des observations directes en microscopie de fluorescence ont permis d'y identifier des particules de type viral (*virus-like particles*) dont l'abondance diminue avec la profondeur (24). ■

*8 Génome de phage ou de virus intégré à celui d'une cellule hôte

- (1) Gommeaux M et al. (2010) *Geomicrobiol J* 27, 76-92
- (2) Chanal A et al. (2006) *Environ Microbiol* 8, 514-25
- (3) Benzerara K et al. (2006) *Meteor Planet Sci* 41, 1249-65
- (4) Garcia-Pichel F et al. (2001) *Appl Environ Microbiol* 67, 1902-10
- (5) Barrat JA et al. (1998) *Science* 280, 412-4
- (6) Gillet P et al. (2000) *Earth Planet Sci Lett* 175, 161-7
- (7) Heulin T et al. (2003) *Int J Syst Evol Microbiol* 53, 589-94
- (8) Benzerara K et al. (2004) *Geomicrobiol J* 21, 341-9
- (9) Benzerara K et al. (2004) *Earth Planet Sci Lett* 228, 439-49
- (10) De Luca G et al. (2011) *PLoS ONE* 6: e23784
- (11) Yayanos AA et al. (1981) *Proc Natl Acad Sci USA* 78, 5212-5
- (12) Whitmann W-B et al. (1998) *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 6578-83
- (13) Roussel EG et al. (2008) *Science* 320, 1046
- (14) Valentine DL (2007) *Nat Rev Microbiol* 5, 316-23
- (15) Fry JC et al. (2008) *FEMS Microbiol Ecol* 66, 181-96
- (16) Batzke A et al. (2007) *Geomicrobiol J* 24, 261-73
- (17) Parkes RJ et al. (2009) *Environ Microbiol* 11, 3140-53
- (18) Bale SJ et al. (1997) *Int J Syst Bacteriol* 47, 515-21
- (19) Lee YJ et al. (2005) *Extremophiles* 9, 375-83
- (20) Imachi H et al. (2011) *ISME J* 5, 1913-25
- (21) Mikucki JA et al. (2003) *App Environ Microbiol* 69, 3311-6
- (22) Edgcomb VP et al. (2011) *Environ Microbiol* 13, 172-83
- (23) Scheckenbach F et al. (2010) *Proc Natl Acad Sci USA* 107, 115-20
- (24) Middelboe M et al. (2011) *Aquatic Microbiol Eco* 63, 1-8