

Sources hydrothermales et suintements froids : des écosystèmes marins profonds basés sur la chimiosynthèse microbienne

Perrine Cruaud

17 mars 2015



lfremer





Déroulement de l'exposé

Introduction

Présentation des écosystèmes chimiosynthétiques et problématiques de l'étude

Matériels et méthodes

Techniques utilisées pour répondre à la problématique de l'étude

Résultats

Présentation des quelques résultats et schéma bilan

Introduction





259.9

Imm=4944.2m Alt=









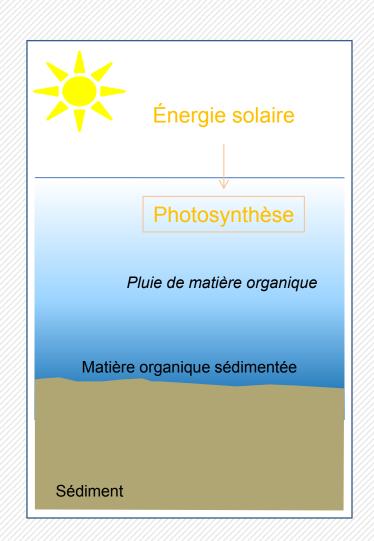


LES ABYSSES

Les abysses sont caractérisées par :

- une absence de lumière
- une température très basse
- une pression importante
- une nourriture rare

En l'absence de production photosynthétique locale, la vie dans les fonds abyssaux dépend principalement des apports organiques de surface.





LES ÉCOSYSTÈMES CHIMIOSYNTHÉTIQUES : SUINTEMENTS FROIDS

Principalement localisés au niveau des marges continentales

Enfouissement de la matière organique

Formation de réservoir d'hydrocarbures enfouis

Les fluides émis sont généralement riches en hydrocarbures légers comme le méthane





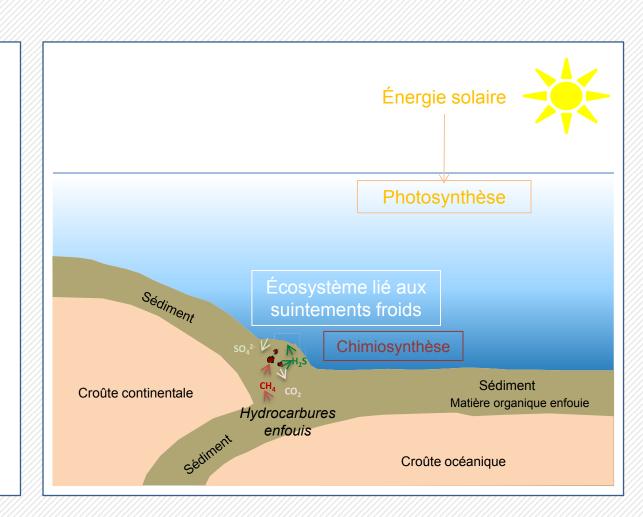
LES ÉCOSYSTÈMES CHIMIOSYNTHÉTIQUES : SUINTEMENTS FROIDS

Principalement localisés au niveau des marges continentales

Enfouissement de la matière organique

Formation de réservoir d'hydrocarbures enfouis

Les fluides émis sont généralement riches en hydrocarbures légers comme le méthane





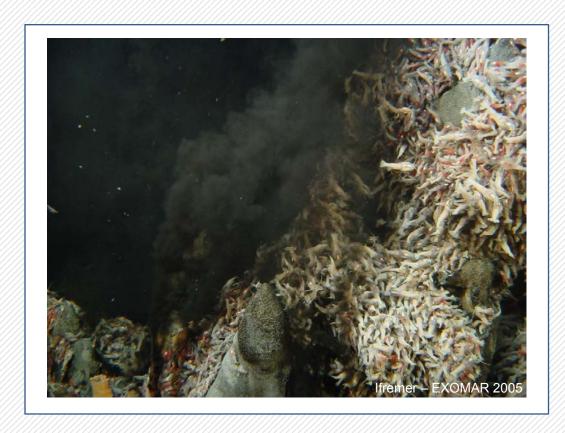
LES ÉCOSYSTÈMES CHIMIOSYNTHÉTIQUES : SOURCES HYDROTHERMALES

Principalement localisées au niveau des dorsales océaniques

Infiltration de l'eau de mer dans la nouvelle croûte océanique

Réchauffement de l'eau à l'approche des chambres magmatiques

Le fluide hydrothermal remonte vers la surface tout en lessivant les roches qu'il traverse.





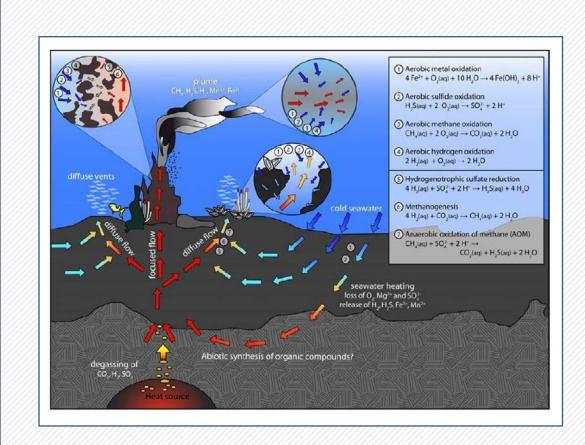
LES ÉCOSYSTÈMES CHIMIOSYNTHÉTIQUES : SOURCES HYDROTHERMALES

Principalement localisées au niveau des dorsales océaniques

Infiltration de l'eau de mer dans la nouvelle croûte océanique

Réchauffement de l'eau à l'approche des chambres magmatiques

Le fluide hydrothermal remonte vers la surface tout en lessivant les roches qu'il traverse.





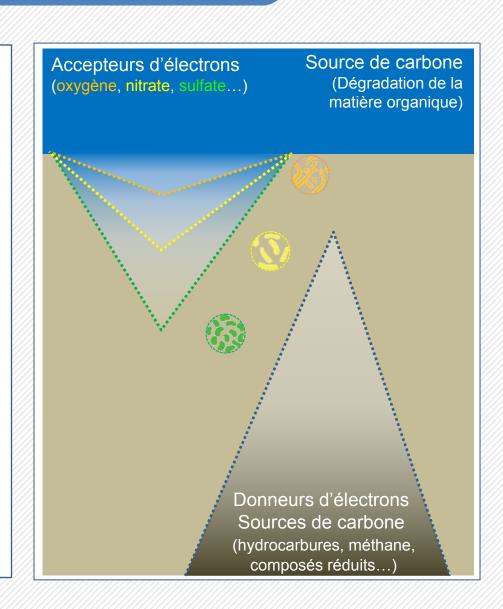
VIVRE DANS CES ENVIRONNEMENTS : LES MICROORGANISMES

A la base de ces écosystèmes : les microorganismes chimiosynthétiques.

Les microorganismes possèdent des voies métaboliques particulières qui leur permettent d'utiliser tel ou tel composé.

Les réactifs utilisés dans les réactions d'oxydo-réduction vont dépendre des composés disponibles dans l'environnement.

Les gradients de température jouent aussi un rôle dans la répartition des différentes communautés microbiennes.





VIVRE DANS CES ENVIRONNEMENTS : LES MICROORGANISMES

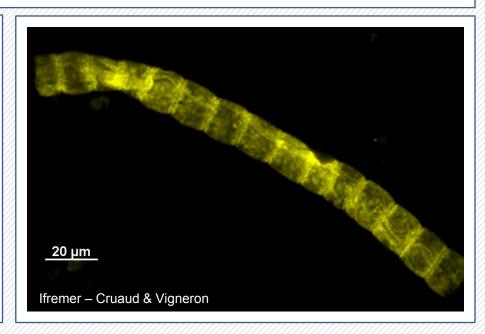


Tapis microbiens

Bactéries géantes filamenteuses affiliées à l'ordre des Thiotrichales.

Localisées à la surface des sédiments.

Utilisent l'oxygène de l'eau de mer pour oxyder les composés soufrés.





VIVRE DANS CES ENVIRONNEMENTS : LES MICROORGANISMES

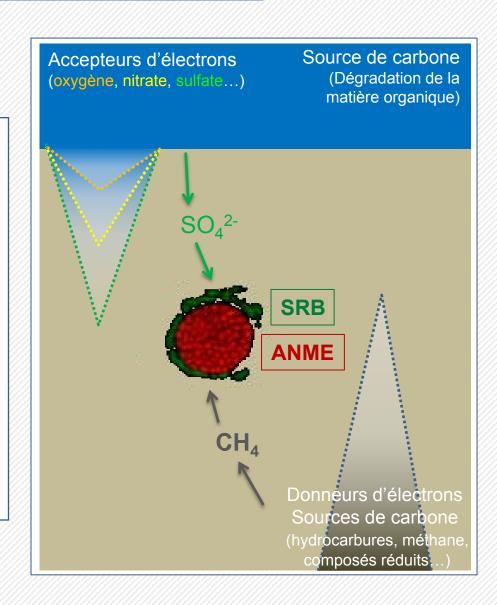
Oxydation anaérobie du méthane (AOM)

Couplée avec la réduction des sulfates de l'eau de mer

Agrégats AOM de bactéries et d'archées

Localisés au niveau de la zone de transition méthane / sulfate

Production des sulfures permettant le développement de communautés thiotrophes





VIVRE DANS CES ENVIRONNEMENTS : LES SYMBIOSES





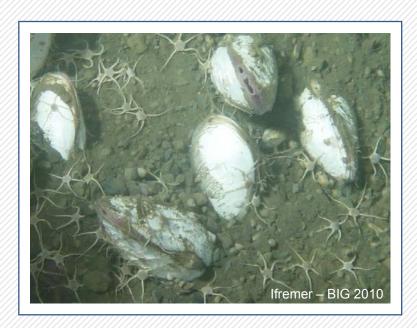
VIVRE DANS CES ENVIRONNEMENTS : LES SYMBIOSES

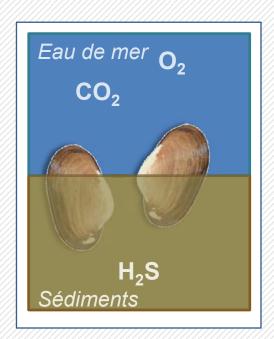
Les Vésicomyidés

Mollusques bivalves vivant en symbiose avec des bactéries oxydant l'hydrogène sulfuré (H₂S)

Système digestif très réduit

Ils vivent plus ou moins enfouis dans le sédiment entre zones oxique et anoxique.







VIVRE DANS CES ENVIRONNEMENTS : LES SYMBIOSES

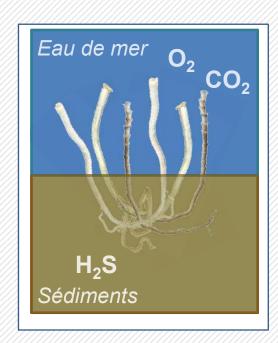
Les Siboglinidés

Vers tubicoles vivant en symbiose avec des bactéries oxydant l'hydrogène sulfuré (H₂S)

Dépourvu de tube digestif, de bouche et d'anus

Ils forment des bouquets au voisinage des sorties de fluides.







Étudier l'influence des communautés microbiennes sur la répartition des différents assemblages faunistiques

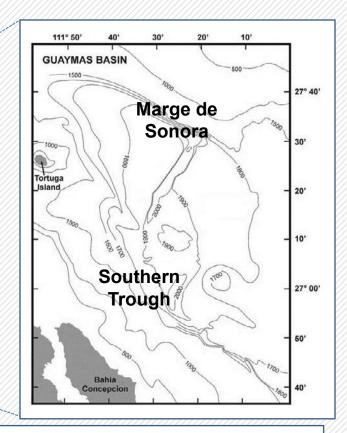
Quels sont les microorganismes présents dans les sédiments sous-jacents les différents assemblages?

Les communautés microbiennes reflètent-elles la présence de certains organismes de surface?

Quelles sont les influences réciproques des communautés microbiennes sédimentaires, des colonisateurs de surface et des caractéristiques physico-chimiques des sites?







Le Bassin de Guaymas est situé dans le Golfe de Californie (Mexique)

Particularités:

- Il regroupe à la fois une zone de suintements froids (Marge de Sonora) et une zone de sources hydrothermales (Southern Trough)
- Le fond du bassin est recouvert par une épaisseur importante de sédiments (2,7 m accumulés tous les 1000 ans)



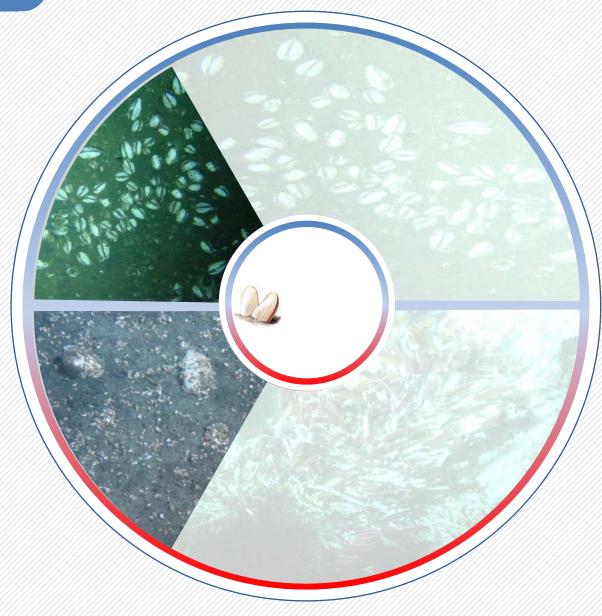
Le Bassin de Guaymas

Épaisse couche de sédiments

Zone de suintements froids (Marge de Sonora) proches d'une zone de sources hydrothermales (Southern Trough)

Les deux zones sont colonisées par des assemblages de surface comparables :

Champ de vésicomyidés







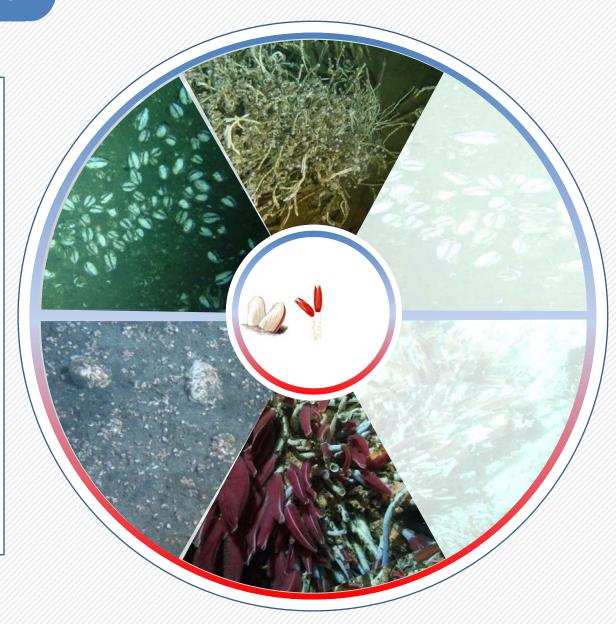
Le Bassin de Guaymas

Épaisse couche de sédiments

Zone de suintements froids (Marge de Sonora) proches d'une zone de sources hydrothermales (Southern Trough)

Les deux zones sont colonisées par des assemblages de surface comparables :

- Champ de vésicomyidés
- Buissons de siboglinidés







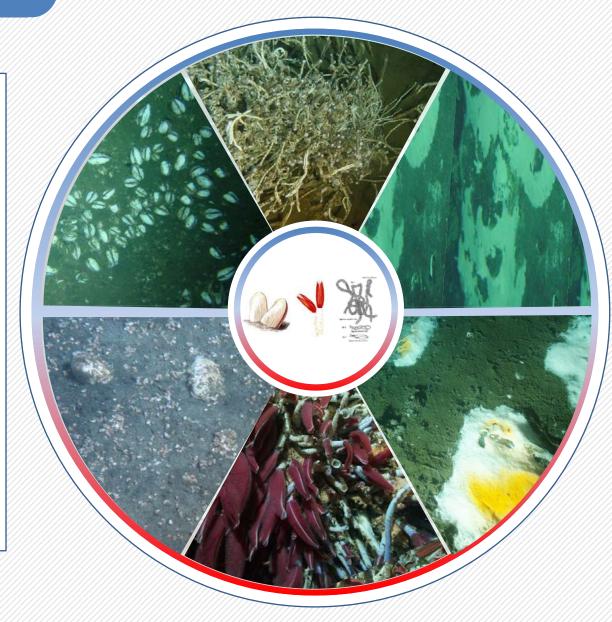
Le Bassin de Guaymas

Épaisse couche de sédiments

Zone de suintements froids (Marge de Sonora) proches d'une zone de sources hydrothermales (Southern Trough)

Les deux zones sont colonisées par des assemblages de surface comparables :

- Champ de vésicomyidés
- Buissons de siboglinidés
- Tapis microbiens



Méthodes d'étude

L'échantillonnage

Séquençage

Microscopie FISH Q-PCR

L'échantillonnage

Campagne BIG 2010 (Biodiversité et Interactions à Guaymas)

A bord du NO *l'Atalante* avec le sous-marin habitable *Nautile*

Échantillonnage des différents habitats à l'aide de carottiers tubes

Conditionnement des échantillons à bord du bateau









ÉCHANTILLONNAGE : LA CAMPAGNE BIG

L'échantillonnage

Campagne BIG 2010 (Biodiversité et Interactions à Guaymas)

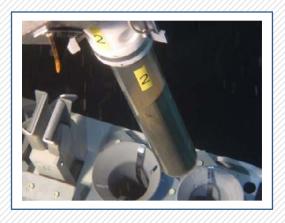
A bord du NO *l'Atalante* avec le sous-marin habitable *Nautile*

Échantillonnage des différents habitats à l'aide de carottiers tubes

Conditionnement des échantillons à bord du bateau









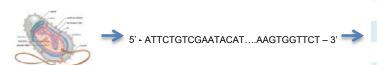






MÉTHODES D'ÉTUDE : SÉQUENÇAGE

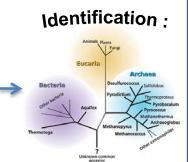
Identification d'un microorganisme



Extraction et séquençage

Banque de données		
Desulfurococcus	5' - ATTGTGTCGATTACGTAAGTGGTTCT – 3'	
Sulfolobus	5' - GTTCTGCCGAATAGATAACTCGTTCT – 3'	
Pyrococcus	5' - GTACTGGCGAATAGATGACTCGATCT – 3'	
Methanococcus	5' - ATTCTGTCGAATACATAAGTGGTTCT – 3'	
Methanopyrus	5' - GTAATGCCGACTAGATGACTCCATCT – 3'	
Archaeoglobus	5' - CGTTTGTCAGCTAGATGACTCCGTTCT – 3'	

Comparaison de la séquence avec les bases de données



Methanococcus

Identification de communautés microbiennes complexes



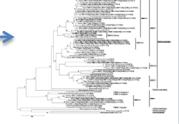


Extraction et Séquençage



Comparaison des séquences avec les bases de données





des commumautés

Séquençage de l'ADN

Extraction de l'ADN sur les sédiments prélevés

Séquençage du gène codant l'ARNr 16S par pyroséquençage (séquençage haut-débit)

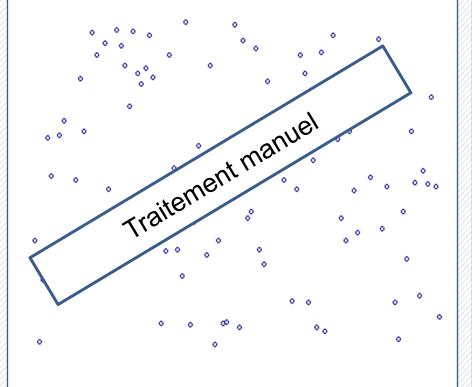


MÉTHODES D'ÉTUDE : SÉQUENÇAGE

Analyse des jeux de données

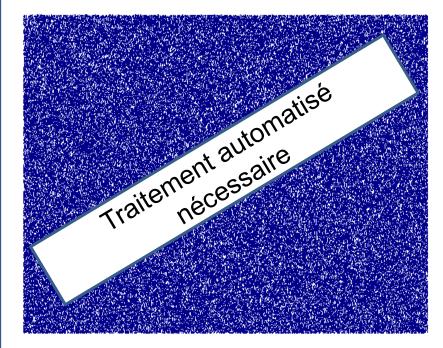
Séquençage classique

Obtention d'une centaine de séquences



Séquençage haut-débit

Obtention de centaine de milliers de séquences





MÉTHODES D'ÉTUDE : SÉQUENÇAGE

Traitement automatisé des séquences obtenues par pyroséquençage

Test de différentes solutions









Problèmes d'identification avec les bases de données classiques

Analyse sur les bases de données et la taxonomie du NCBI

Affiliation	% de séquences obtenues
uncultured archaeon	81,41%
uncultured euryarchaeote	15,51%
uncultured Halobacteriales archaeon	1,03%
uncultured archaeon BA2H11fin	0,91%
uncultured archaeon WCHD3-30	0,34%
uncultured Methanosarcinales archaeon	0,23%
unidentified archaeon	0,23%
archaeon enrichment culture clone AOM-Clone-G10	0,11%
uncultured marine euryarchaeote	0,11%
uncultured methane-oxidizing archaeon	0,11%



MÉTHODES D'ÉTUDE : SÉQUENÇAGE

Traitement automatisé des séquences obtenues par pyroséquençage

Test de différentes solutions

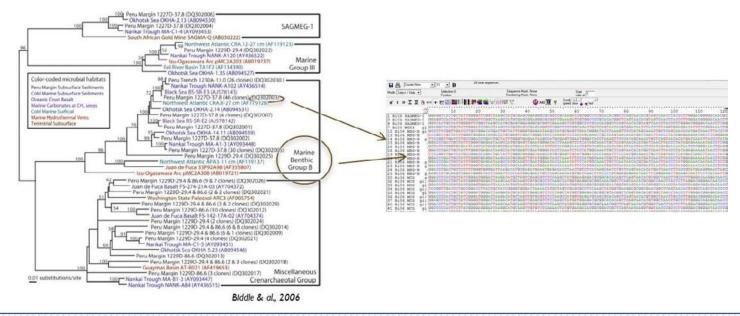








Création d'une base de données personnalisée





MÉTHODES D'ÉTUDE : SÉQUENÇAGE

Traitement automatisé des séquences obtenues par pyroséquençage

Test de différentes solutions









Création d'une base de données personnalisée

N° Accession	Classification NCBI	Classification littérature	Classification finale
DQ302006	Non définie	>1_Bi06_SAGMEG_1	SAGMEG
DQ302004	Non définie	>3_Bi06_SAGMEG_1	SAGMEG
AY093453	Non définie	>4_Bi06_SAGMEG_1	SAGMEG
DQ302022	Non définie	>7_Bi06_Mg2	MBG-D
DQ302030	Non définie	>12_Bi06_MBG_B	MBG-B
AY436514	Non définie	>13_Bi06_MBG_B	MBG-B
AJ578143	Non définie	>14_Bi06_MBG_B	MBG-B
DQ302003	Non définie	>15_Bi06_MBG_B	MBG-B
AF119128	Non définie	>16_Bi06_MBG_B	MBG-B
AF356644	Non définie	>37_Bi12_ANME1a_GuII	ANME-1
FR682490	Non définie	>38_Bi12_ANME1a_GuII	ANME-1
JF937719	Non définie	>39_Bi12_ANME1_Gu	ANME-1 Guaymas
JF937715	Non définie	>40_Bi12_ANME1_Gu	ANME-1 Guaymas
JF937746	Non définie	>41_Bi12_ANME1_Gu	ANME-1 Guaymas
X99555	P. fumarius	>75Dh05_Desulfurococcales	Pyrolobus
<u>x99559</u>	P. abyssi	>76Dh05_Desulfurococcales	Pyrodictium
AY835410	Non définie	>78Dh05_MBG_B	MBG-B

Extrait de la base de données personnalisée



MÉTHODES D'ÉTUDE : SÉQUENÇAGE

Traitement automatisé des séquences obtenues par pyroséquençage

Test de différentes solutions



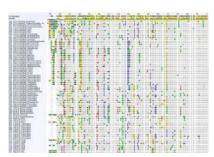






Analyse des résultats de séquençage





Extraction et Séquençage

Analyse des séquences

❖ Base de données Silva



Base de données personnalisée

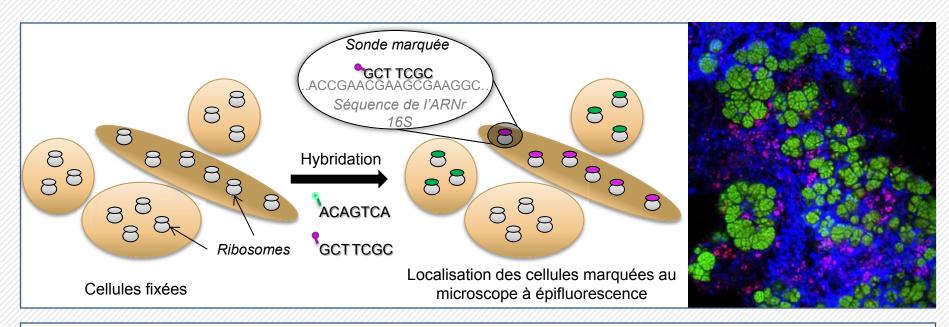




Identification des communautés



MÉTHODES D'ÉTUDE : FISH ET Q-PCR



Microscopie FISH

Elle va permettre de détecter et de visualiser l'organisation spatiale et la morphologie des groupes microbiens théoriquement actifs dans nos échantillons à l'aide de sondes spécifiques

La PCR quantitative

Elle va permettre de quantifier et d'analyser la distribution des groupes microbiens dans nos échantillons à l'aide d'amorces spécifiques



Résultats - Discussion





LES SITES ÉTUDIÉS

Sites colonisés par de la mégafaune

Sonora de Marge







Deux sites colonisés par des bivalves vésicomyidés (Ayala et Vasconcelos)

Un site colonisé par des vers siboglinidés (Juarez)

Southern Trough



Un site colonisé par des bivalves vésicomyidés (Morelos)

Concentrations en méthane et en sulfure réduites dans les sédiments

Sites colonisés par des tapis microbiens

Sonora Marge de



Un site colonisé par un tapis microbien (Vasconcelos)



Le pourtour de ce tapis colonisé par des gastéropodes (Vasconcelos)

Southern Trough



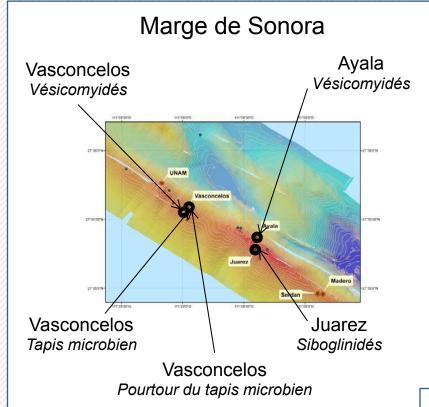
Un site colonisé par un tapis microbien (MegaMat)

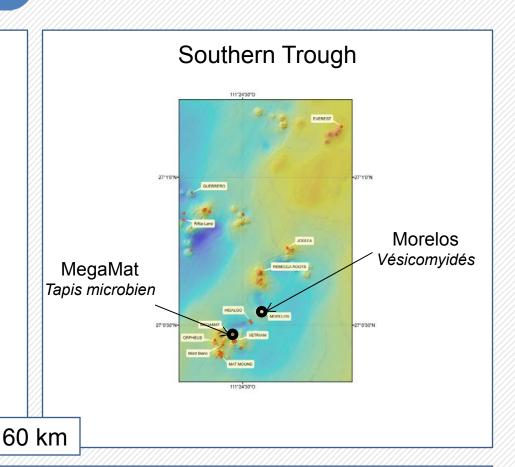
Concentrations en méthane et en sulfure importantes dans les sédiments





Présentation des sites d'étude





7 sites différents suintements froids / sources hydrothermales et un site hors des zones actives

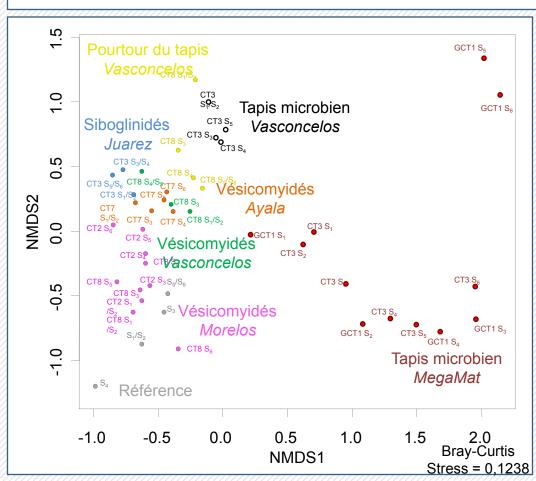
10 carottes de sédiments divisées en sections de 2 cm, soit 45 échantillons séquencés





Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)



Résultats Archaea

Résultats habitats suintements froids (pôle froid) et sources hydrothermales (pôle chaud)

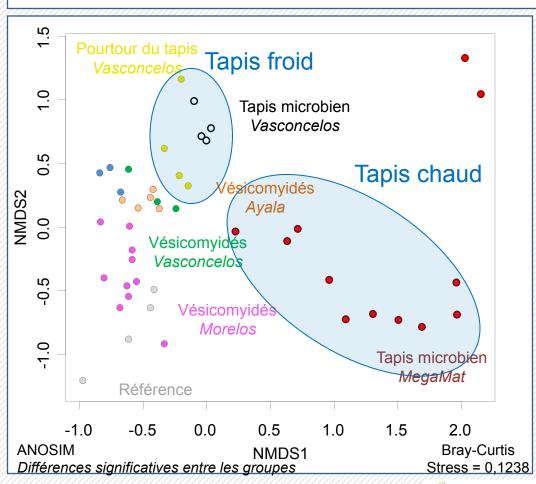
Un point = Un échantillon

Plus les points sont proches, plus les structures des communautés microbiennes détectées dans les échantillons sont similaires.



Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)

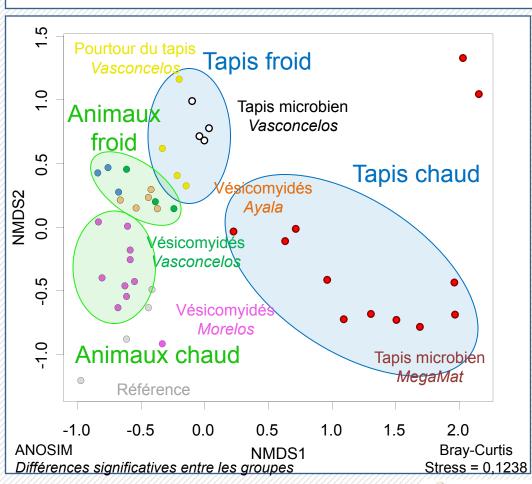


Résultats Archaea



Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)

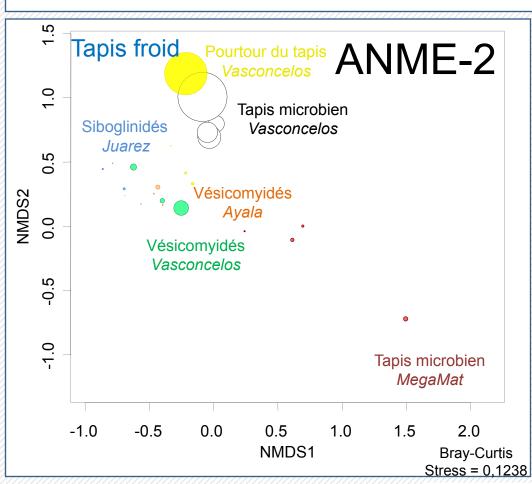


Résultats Archaea



Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)



Résultats Archaea

Différences significatives entre les groupes

Groupes microbiens responsables

©ANME-2

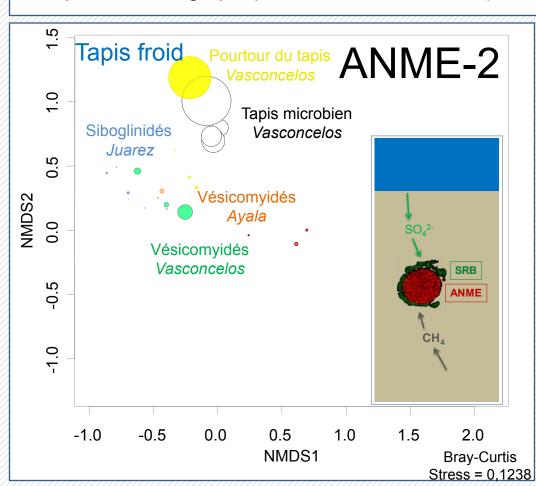
Proportions importantes sous les tapis microbiens du pôle froid





Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)



Résultats Archaea

Différences significatives entre les groupes

Groupes microbiens responsables

©ANME-2

Proportions importantes sous les tapis microbiens du pôle froid

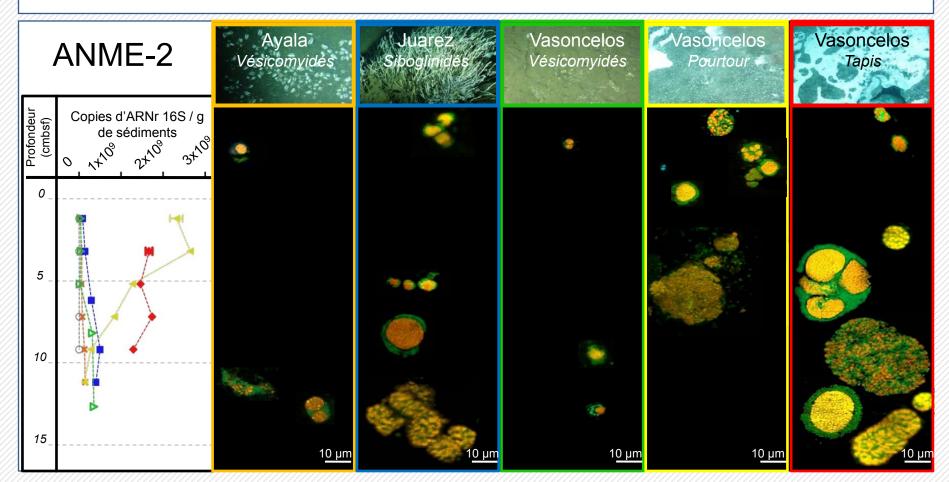




COMPARAISON Q-PCR ET FISH

Visualisation et interprétation des données

PCR quantitative et Hybridation fluorescente in situ (FISH)

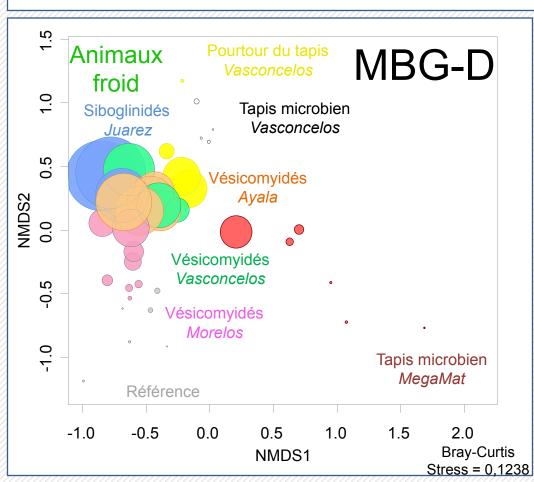






Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)



Résultats Archaea

Différences significatives entre les groupes

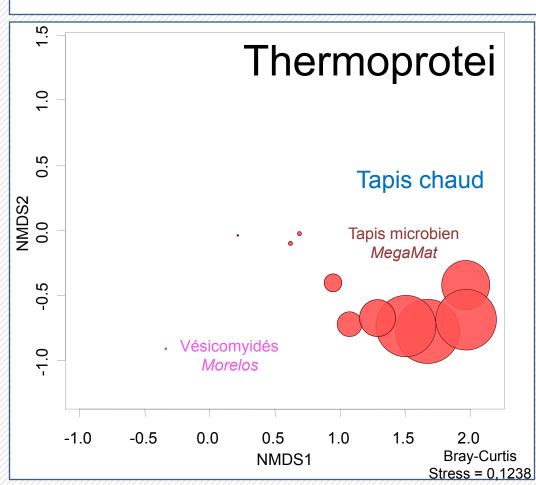
Groupes microbiens responsables

- C ANME-2
 - Proportions importantes sous les tapis microbiens du pôle froid
- MBG-D (Marine Benthic Group D)
 Proportions importantes sous les animaux du pôle froid et en profondeur sous les vésicomyidés du pôle chaud



Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)



Résultats Archaea

Différences significatives entre les groupes

Groupes microbiens responsables

© ANME-2

Proportions importantes sous les tapis microbiens du pôle froid

MBG-D

Proportions importantes sous les animaux du pôle froid et en profondeur sous les vésicomyidés du pôle chaud

Thermoprotei

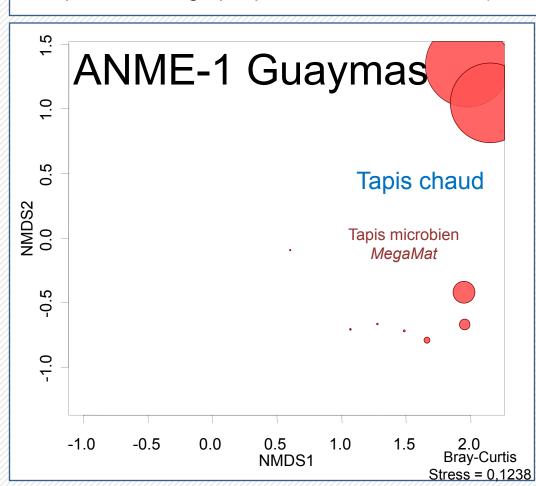
Proportions importantes sous les tapis microbiens du pôle chaud





Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)



Résultats Archaea

Différences significatives entre les groupes

Groupes microbiens responsables

C ANMF-2

Proportions importantes sous les tapis microbiens du pôle froid

MBG-D

Proportions importantes sous les animaux du pôle froid et en profondeur sous les vésicomyidés du pôle chaud

ANME-1 Guaymas

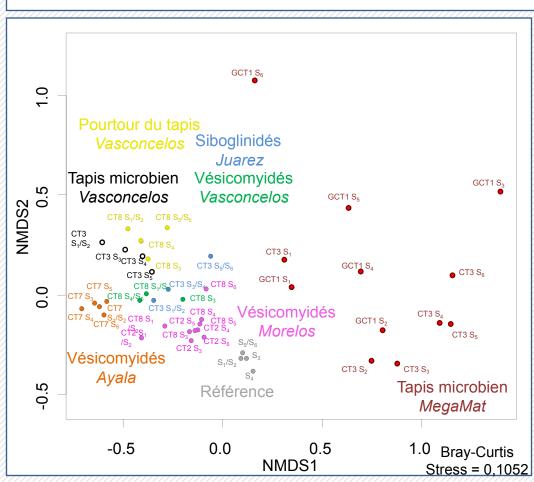
Détectées exclusivement sous les tapis microbiens du pôle chaud





Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)

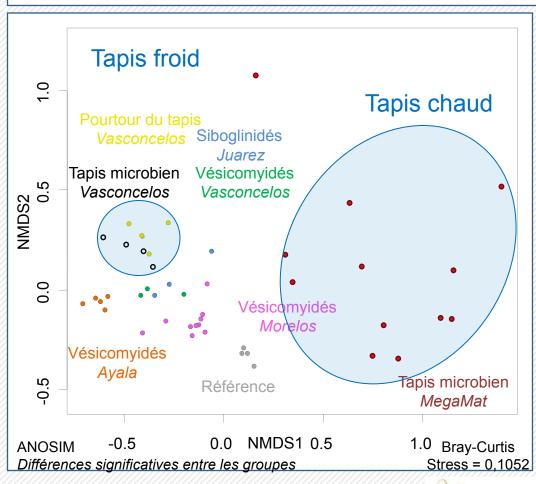


Résultats Bacteria



Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)

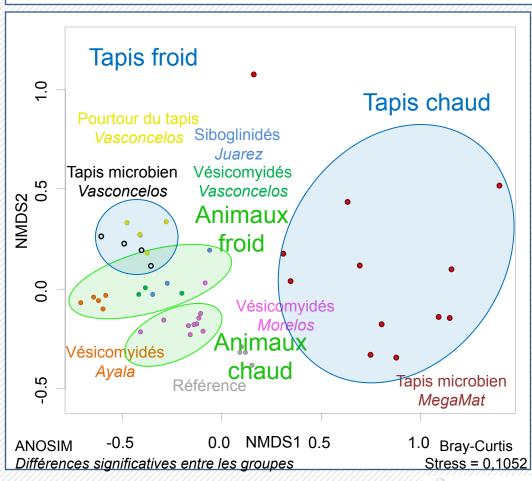


Résultats Bacteria



Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)

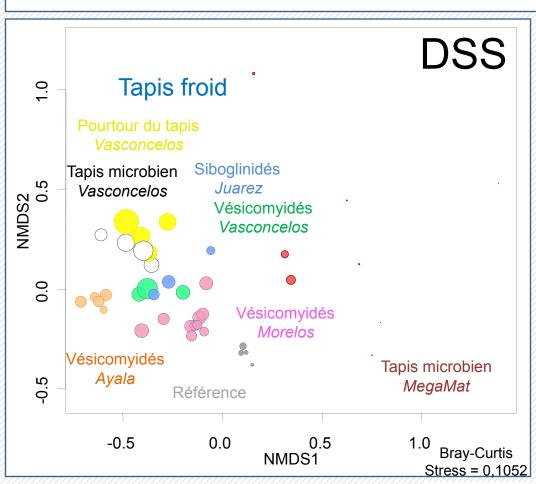


Résultats Bacteria



Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)



Résultats Bacteria

Différences significatives entre les groupes

Groupes microbiens responsables

©DSS (Deltaprotebacteria)

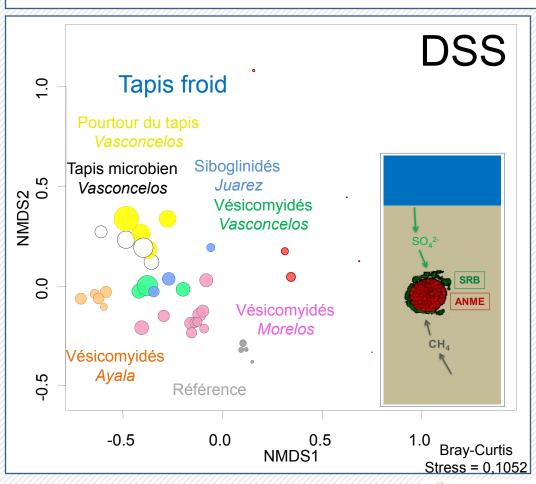
Proportions plus importantes sous les habitats du pôle froid





Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)



Résultats Bacteria

Différences significatives entre les groupes

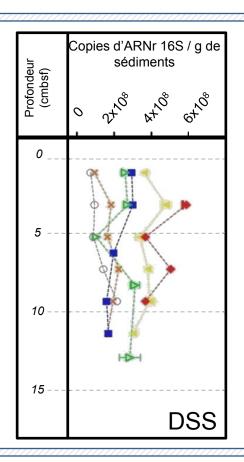
Groupes microbiens responsables

©DSS (Deltaprotebacteria)

Proportions plus importantes sous les habitats du pôle froid

Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)



Résultats Bacteria

Différences significatives entre les groupes

Groupes microbiens responsables

©DSS (Deltaprotebacteria)

Proportions plus importantes sous les habitats du pôle froid

Ayala (Vésicomyidés)

Juarez (Siboglinidés)

Vasconcelos BIG13 (Vésicomyidés)

Vasconcelos BIG18 (Pourtour tapis)

Vasconcelos BIG18 (Tapis microbien)

- Référence





COMPARAISON Q-PCR ET FISH

Visualisation et interprétation des données

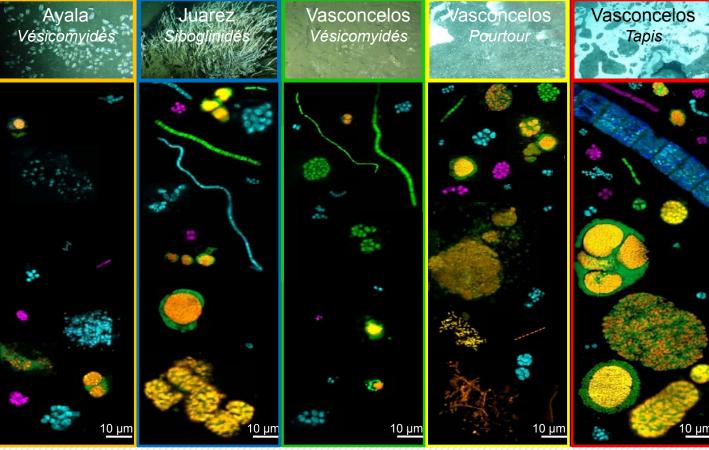
PCR quantitative et Hybridation fluorescente in situ (FISH)

Résultats Bacteria

Plus de DSS sous les tapis

Filamenteuses sous les animaux

Gammaproteobacteria Deltaproteobacteria **E**psilonproteobacteria



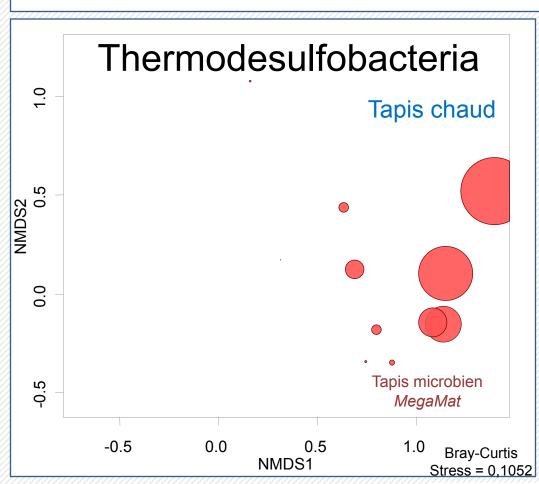


ANME



Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)



Résultats Bacteria

Différences significatives entre les groupes

Groupes microbiens responsables

CDSS (Deltaprotebacteria)

Proportions plus importantes sous les habitats du pôle froid

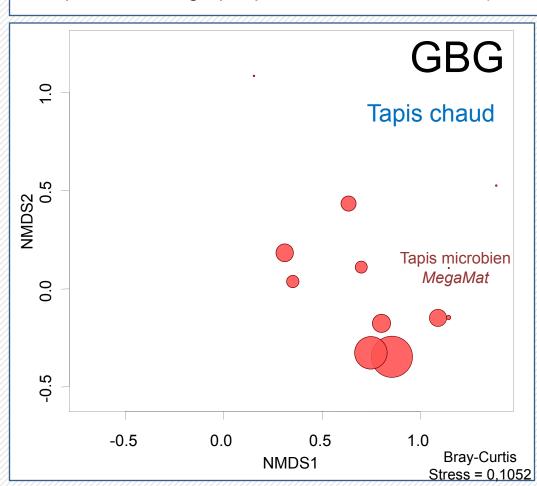
Thermodesulfobacteria

Détectées exclusivement sous les tapis microbiens du pôle chaud



Visualisation et interprétation des données

Représentation graphique des résultats NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling)



Résultats Bacteria

Différences significatives entre les groupes

Groupes microbiens responsables

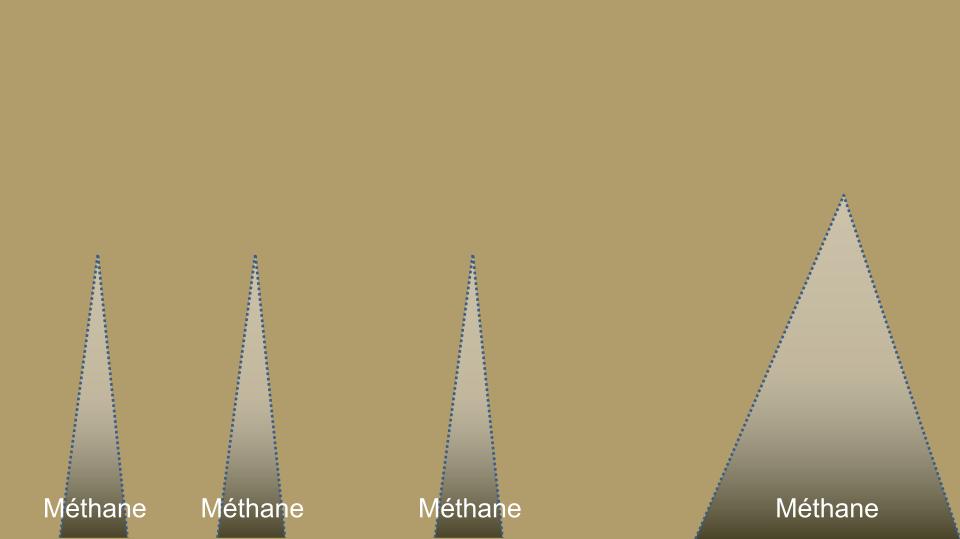
- ©DSS (Deltaprotebacteria)
 - Proportions plus importantes sous les habitats du pôle froid
- Thermodesulfobacteria Détectées exclusivement sous les tapis microbiens du pôle chaud
- GBG (Guaymas Basin Group) Détectées exclusivement sous les tapis microbiens du pôle chaud

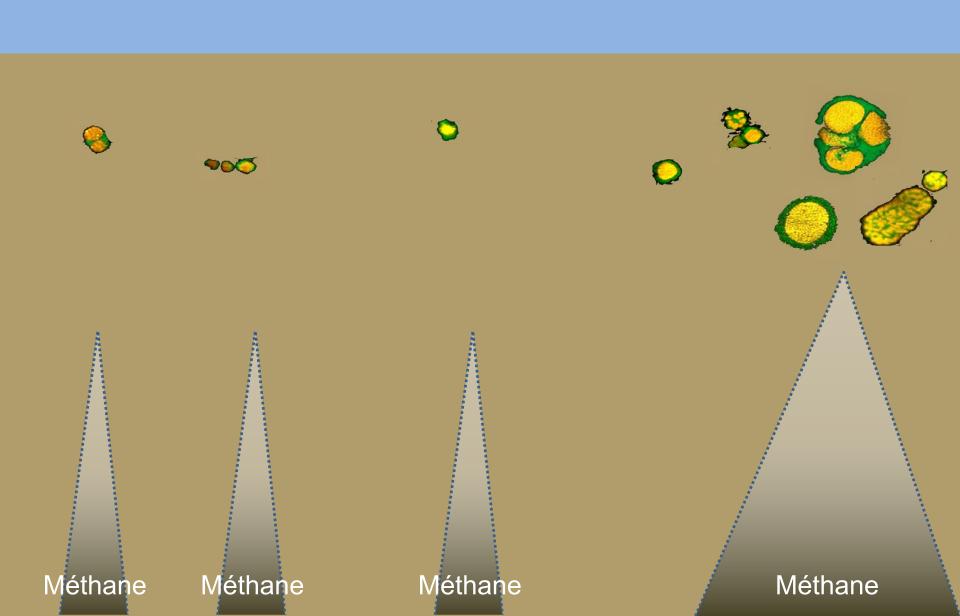


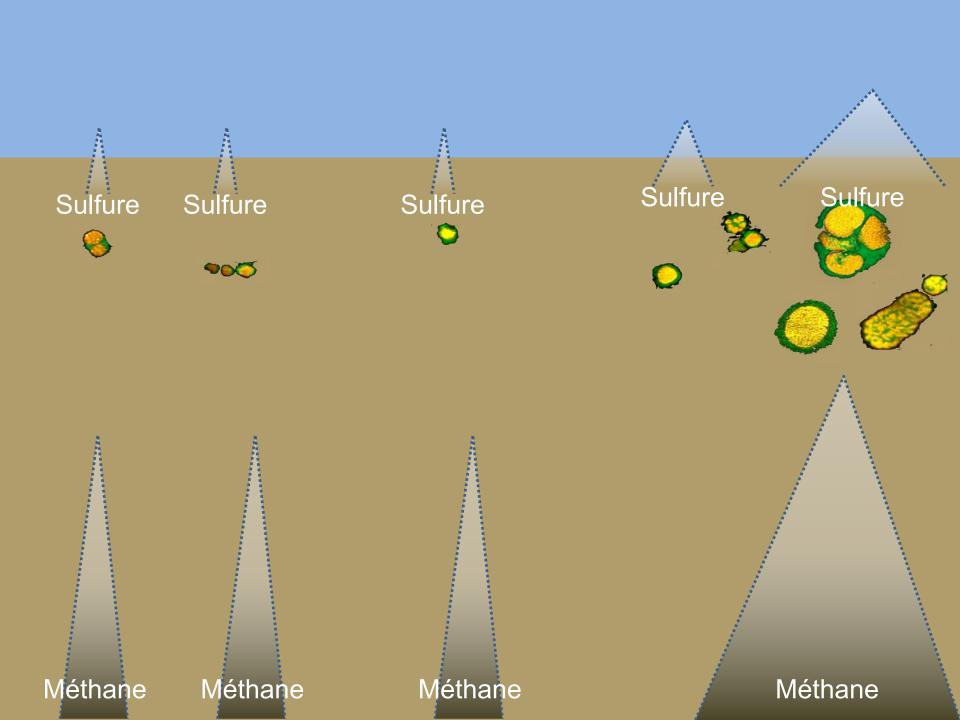
Schéma bilan

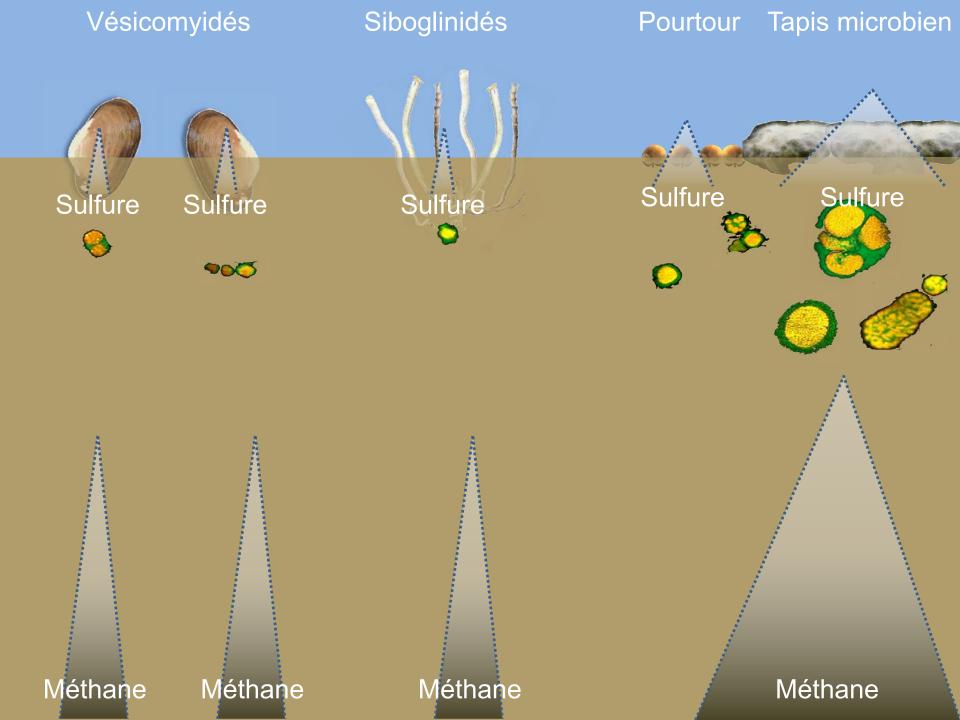


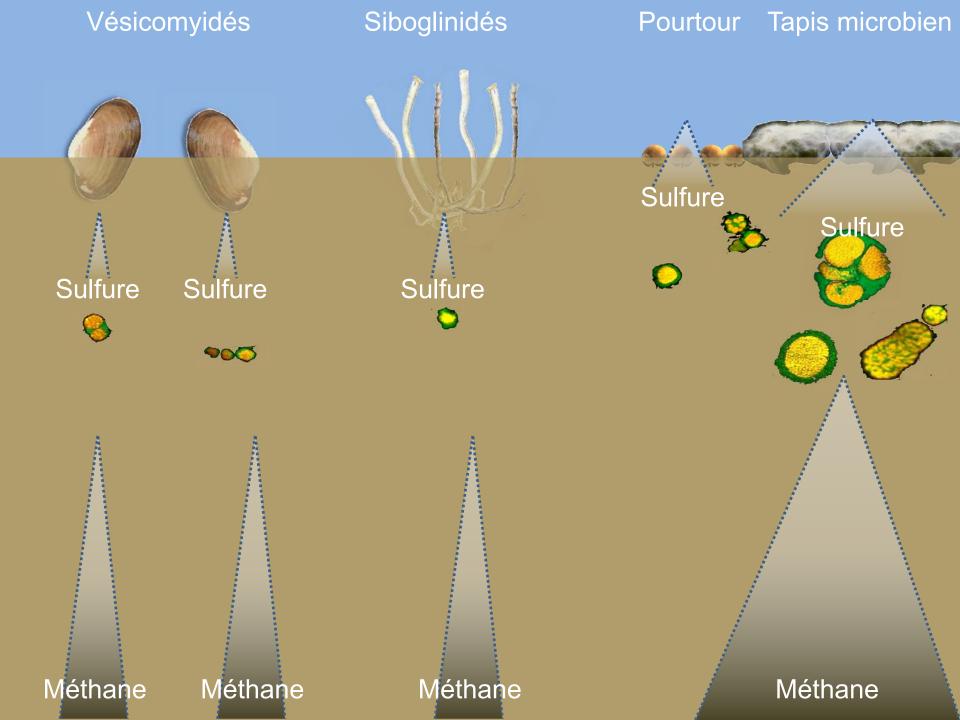


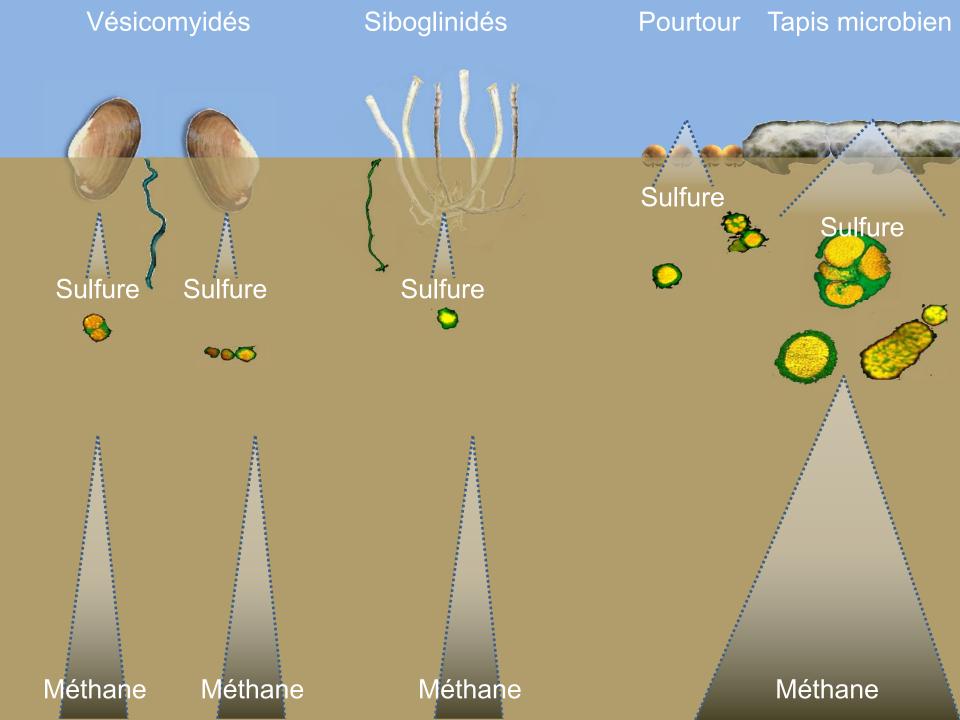


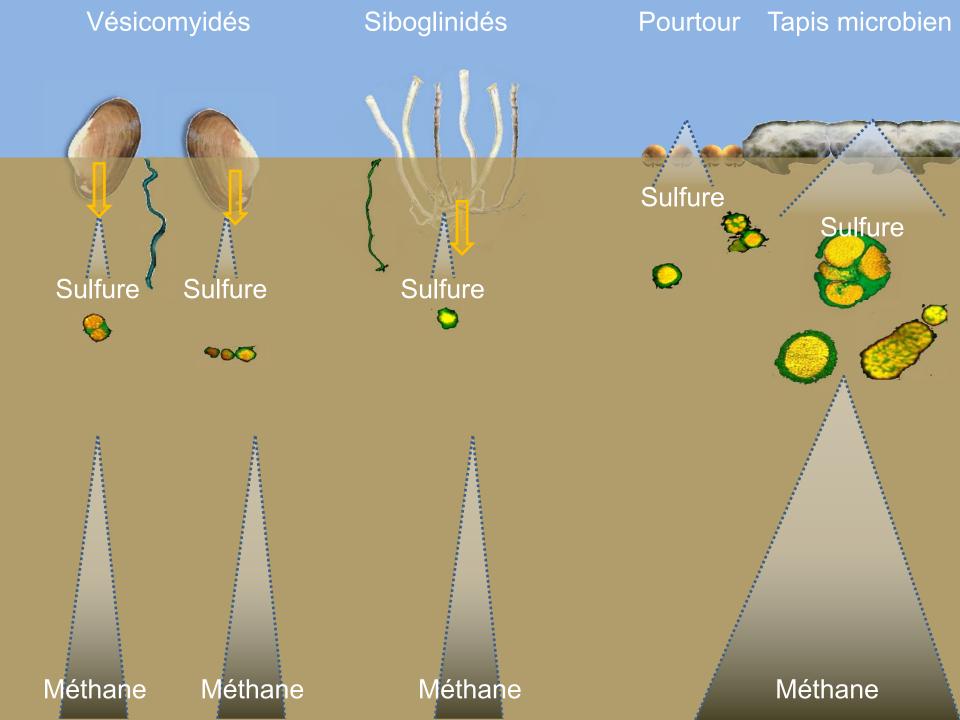


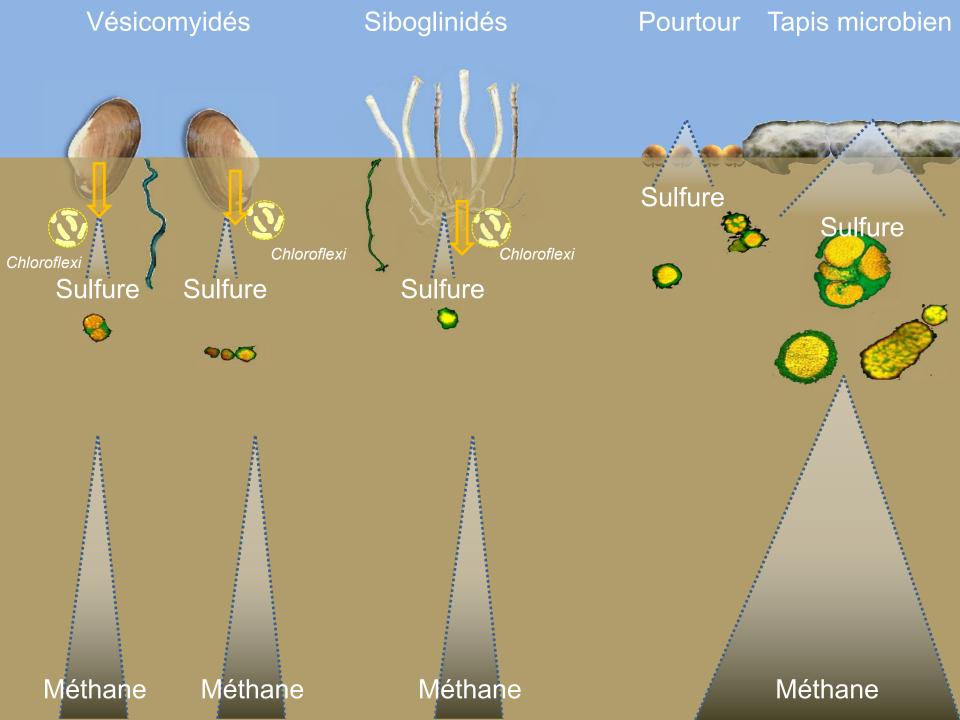


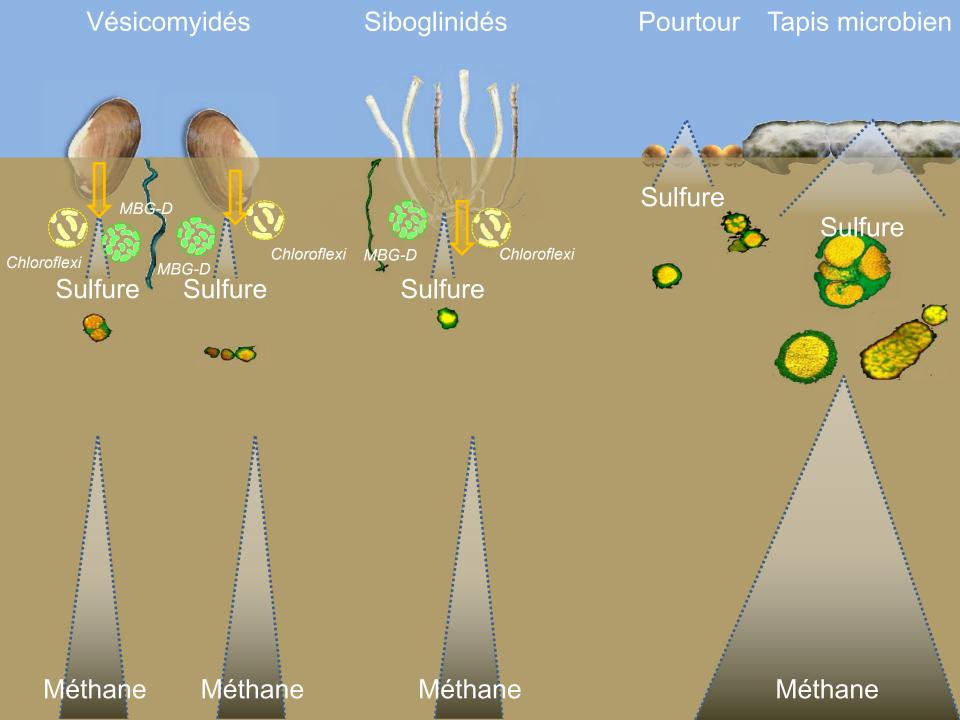






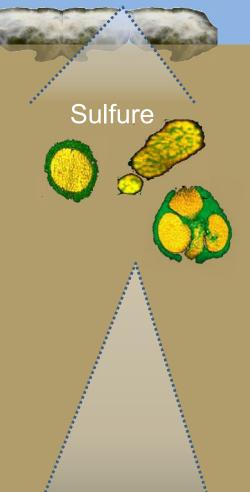






Tapis microbien MegaMat

....60 km.....

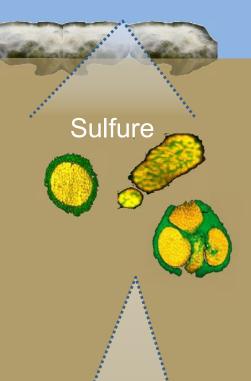


Méthane



Méthane Sulfure60 km.....

Tapis microbien MegaMat



ANME-2/SRB2?

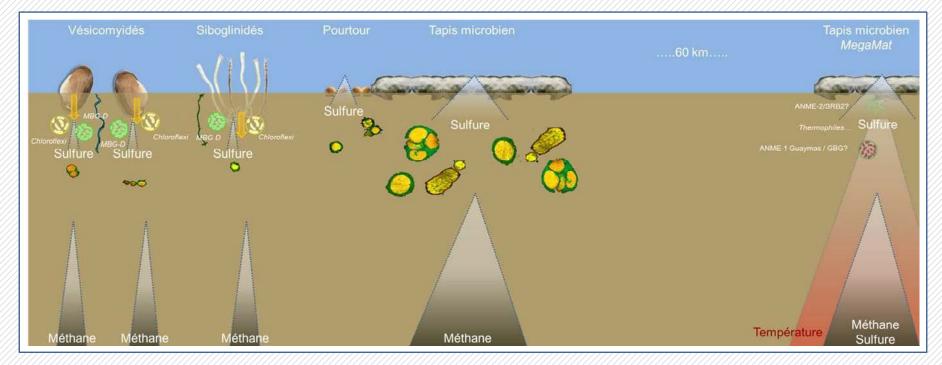
Thermophiles... Sulfure

ANME-1 Guaymas / GBG?

Température

Méthane Sulfure





Systèmes complexes et dynamiques

Communautés microbiennes sédimentaires, composition des fluides et organismes de surface interagissent les uns avec les autres

