

LES BACTERIES DE L'EXTREME

UNE NOUVELLE VOIE DE RECHERCHE SUR LES FORMES DE VIE LES

La microbiologie industrielle, partie intégrante des biotechnologies, est un secteur et un enjeu importants de l'économie mondiale. Les microorganismes utilisés industriellement représentent au plus quelques centaines d'espèces sur les quelque 100 000 existant dans la nature. Ils appartiennent essentiellement à quatre

PLUS PRIMITIVES groupes :

bactéries, actinomycètes, levures et moisissures. Les capacités de synthèse des microorganismes ne sont pas réservées aux seules industries alimentaires et pharmaceutiques; les microorganismes sont également susceptibles de produire des matières premières ou des substances chimiques industrielles directement utilisables.



Prélèvement de sédiment sur le lac Kivu
(Zaïre) à 200 m de profondeur
Photo: A. Brauman

Dans leur course aux espèces présentant des potentialités biotechnologiques élevées, les microbiologistes ont été amenés à prospecter des environnements extrêmes ainsi définis par leur température, leur pression, leur pH ou leur salinité. Ce sont essentiellement des bactéries isolées de tels écosystèmes que les chercheurs veulent utiliser pour améliorer l'extraction du pétrole, traiter des minerais, fabriquer des aliments ou des médicaments nouveaux ou encore développer la bioélectronique. Ces microbes se sont adaptés pour survivre dans ces milieux extrêmes, par des mécanismes énergétiques, métaboliques et physiologiques originaux. Par exemple, des processus biochimiques particuliers doivent assurer la stabilité de leurs composants membranaires et le fonctionnement de leurs coenzymes. Les résultats des recherches sur ces thèmes ont de ce fait une importance considérable, non seulement en microbiologie, mais également en biologie générale.

La plupart de ces bactéries appartiennent au groupe des Archéobactéries* découvert par l'Américain C. Woese en 1977. Ces microorganismes se distinguent des Eubactéries* classiques par un certain nombre de caractères originaux comme la structure des lipides de leur paroi cellulaire et la présence de coenzymes particuliers.

Les Archéobactéries se sont séparées des autres bactéries très tôt dans l'évolution, il y a trois milliards d'années, et regroupent les bactéries méthanogènes anaérobies et certaines bactéries halophiles ou thermoacidophiles aérobies.

Le Laboratoire de Microbiologie Orstom de Marseille, spécialisé dans l'écologie microbienne de la dégradation anaérobie de la matière organique, participe à ces recherches depuis quelques années en liaison avec ses partenaires et équipes implantées dans les pays en développement, en isolant et en caractérisant des bactéries de biotopes* extrêmes d'Afrique tels que les lacs salés du Sénégal et de Tunisie, les sols miniers ou encore les zones post-volcaniques comme le lac Kivu au Zaïre. Ces bactéries sont adaptées à de fortes salinités (halophiles), à de bas pH (acidophiles) ou à de hautes températures (thermophiles).



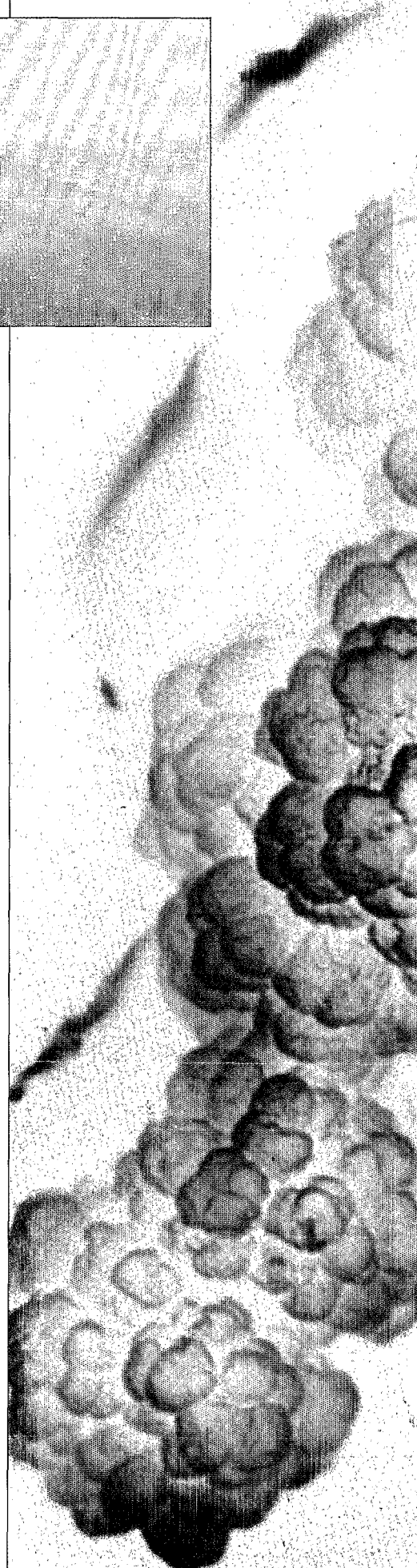
LES BACTERIES HYPERTHERMOPHILES OU COMMENT RESISTER A 110°C !

Au début des années 80, des chercheurs allemands ont découvert des dizaines d'Archéobactéries nouvelles en explorant les sources chaudes sulfureuses de différentes régions volcaniques du globe, notamment en Islande et en Italie. Certaines de ces bactéries vivent à des températures supérieures à 95°C; ce sont des hyperthermophiles anaérobies car la solubilité de l'oxygène est nulle à cette température. L'une d'entre elles, *Pyrodictium*, croît à 110°C sous pression, ce qui constitue actuellement la limite supérieure de température pour la vie sur terre.

La chasse aux nouvelles Archéobactéries est loin d'être terminée. De nombreux environnements commencent tout juste à être explorés, comme les rifts océaniques situés entre 2000 à 3000 mètres de profondeur, où des bactéries hyperthermophiles ont été découvertes dans les sources chaudes sous-marines qui y prennent naissance. La résistance à la chaleur a été acquise chez ces bactéries grâce à des modifications subtiles de leurs protéines, de leur ADN et de leur paroi cellulaire. Si leur origine est encore controversée, leur avenir s'annonce plutôt florissant.

Il existe également des espèces thermophiles modérées parmi les Archéobactéries mais surtout chez les Eubactéries, dont l'optimum de température se situe entre 55 et 65°C. Le Laboratoire Orstom de Marseille a déjà isolé plusieurs de ces bactéries dans des forages géothermiques ou pétroliers ainsi qu'en Afrique dans des vins de palme fermentés ou dans les sédiments du lac Kivu du Zaïre. De nouvelles espèces ont été déjà décrites ou sont sur le point de l'être. Ces espèces sont capables de faire fermenter divers substrats carbonés, de produire du méthane ou de réduire les sulfates en sulfures.

L'étude de ces bactéries thermophiles est un sujet très "actuel", à la pointe de



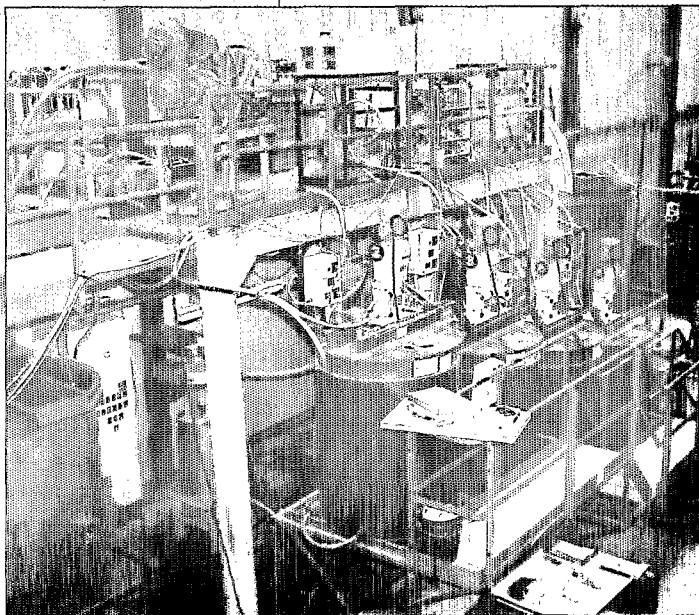
la technologie et intéresse aussi bien la recherche fondamentale que les industriels qui recherchent des bactéries capables de dégrader des polluants marins ou des effluents toxiques, de synthétiser des biopolymères utilisables pour l'extraction pétrolière, des métabolites originaux pouvant constituer de nouveaux médicaments, ou enfin des enzymes thermostables destinées à de nombreux procédés industriels comme les protéases, les cellulases et les amylases. La stabilité à la chaleur de telles enzymes peut, en effet, diminuer le coût des procédés qui utilisent des enzymes microbiennes mésophiles* conventionnelles. Ces enzymes thermostables sont en outre généralement plus actives que les autres à température moyenne.

Les processus de biodégradation anaérobie en thermophilie sont surtout l'oeuvre de consortia bactériens et les connaissances des interactions écologiques de telles populations mixtes sont de première importance. C'est pour cette raison que l'Orstom développe, dans le cadre de son Grand Programme de recherche "Fermentations en milieu liquide" de l'UR 3B du département Milieux et Activité Agricole, des études physiologiques de cultures bactériennes mixtes définies en thermophilie, dans le but de mettre au point des inoculum* artificiels susceptibles d'améliorer la conduite de certaines fermentations industrielles.

Methanosarcina mazei, bactérie méthanogène isolée d'un digesteur au Congo, photographiée au microscope à balayage - Photo N. Cuzin, Orstom

5 µm

Pilote de biolixiviation de l'or, de 4x1m³ en service au BRGM d'Orléans
Photo D. Morin, BRGM



LES ORGANISMES HALOPHILES

Tout organisme capable de croître en l'absence ou en présence de sels est qualifié d'halotolérant; s'il exige du sel pour sa croissance, on dit qu'il est halophile. Il existe deux catégories d'organismes halophiles, les modérés et les halophiles extrêmes. Les biotopes où l'on rencontre les microorganismes hyperhalophiles sont les lacs salés tropicaux ou subtropicaux comme le Grand Lac Salé des USA, la Mer Morte en Israël, les chotts du Sud tunisien et le "lac rose" de Retba au Sénégal. Ces étendues d'eaux sont sujettes à de très fortes évaporations qui excèdent l'apport d'eau douce. C'est également le cas des marais salants aménagés par l'homme pour la récolte du sel de mer. La concentration en sels dans ces biotopes peut atteindre 300g par litre, soit près de dix fois la teneur en sels de l'eau de mer. Seules des bactéries et des micro-algues vertes du genre *Dunaliella* sont susceptibles de résister aux fortes concentrations en sels. Les bactéries sont pour la plupart aérobies et appartiennent dans leur majorité aux Archéobactéries. Les anaérobies parmi lesquelles on trouve des bactéries fermentaires, photosynthétiques, sulfatoréductrices ou méthanogènes ont été peu étudiées bien que la faible dissolution de l'oxygène dans les environnements salés favorise leur croissance. Au Laboratoire de Microbiologie Orstom de Marseille, plusieurs nouvelles souches de bactéries anaérobies strictes halophiles ont été isolées, capables de faire fermenter les sucres ou de réduire les sulfates, comme *Desulfohalobium retbaense*, un nouveau genre découvert dans le "lac rose" au Sénégal. Cette bactérie est la première sulfatoréductrice décrite qui croît à des teneurs en NaCl allant jusqu'à 240 g/l. Le mécanisme de résistance aux sels développé par les microorganismes est de deux types: certaines micro-algues synthétisent dans leur cytoplasme des composés de faible poids moléculaire, comme le glycérol, qui compense la forte tonicité du milieu extérieur; d'autres bactéries peuvent accumuler dans leur cytoplasme de fortes concentrations en chlorure de potassium en adaptant toute leur machinerie enzymatique et génétique à ces concentrations. La production d'enzymes résistantes aux sels est également d'un grand intérêt pour les biotechnologues qui recherchent des enzymes capables d'opérer dans les conditions particulièrement difficiles rencontrées dans de nombreux procédés industriels. En associant les caractères thermophile et halophile, on se rapproche des conditions qui existent souvent dans les



Lac rose de Retba, Sénégal - Photo B. Ollivier, Orstom.

puits de pétrole. Certaines bactéries extraites de ces biotopes, ont la particularité de produire des détergents naturels parfaitement biodégradables, capables de libérer le pétrole des interstices et cavités dans lesquels il est prisonnier, après injection d'eau ou de gaz dans les puits. Le Laboratoire Orstom de Marseille travaille actuellement sur l'écologie bactérienne de ces forages pétroliers en collaboration avec la Société Nationale Elf Aquitaine (SNEA) et son laboratoire de Labège (Haute Garonne).

L'ACIDOPHILIE

Certaines bactéries aérobies comme les Thiobacilles*, sont capables de se multiplier à des pH très bas sur des composés soufrés tels que les gangues de sulfures (pyrite ou arsénopyrite) qui emprisonnent certains minerais réfractaires. Ces mêmes bactéries tolèrent également de fortes teneurs en métaux toxiques comme l'arsenic. Les grains de minerais disséminés dans les sulfures sont pratiquement inaccessibles par les techniques d'extraction traditionnelles; en outre, la rentabilité de ces procédés est insuffisante. Plus de 10% de la production de cuivre et d'uranium aux Etats-Unis proviennent de la technique d'extraction biologique de minerais ou "biolixiviation".

En France, le Bureau de Recherches Géologiques et Minières (BRGM) s'in-

téresse plus particulièrement à l'extraction de l'or et du cobalt de minerais réfractaires de France et d'Afrique. Ses chercheurs ont mis au point un fermentateur pilote de 4 m³ utilisant un inoculum bactérien naturel adapté, dont l'analyse a été réalisée au Laboratoire Orstom de Marseille, à l'occasion d'une thèse de doctorat. Cette culture bactérienne est un mélange de deux Thiobacilles dont l'un est également capable d'oxyder les composés ferreux. Le PIRSEM* s'intéresse actuellement à ces problèmes et finance une opération multidisciplinaire pilotée par le Cnrs de Marseille.

Le lixiviation bactérienne semble donc une alternative prometteuse sur le plan économique mais également vis à vis de l'environnement. Le fer et l'arsenic, se retrouvant en solution, peuvent en effet être précipités sous forme de produits stables et non polluants.

UN AVENIR PROMETTEUR

Les bactéries extrêmophiles présentent donc des potentialités biotechnologiques intéressantes et prometteuses. Dans la pratique, les bactéries thermophiles sont déjà utilisées pour la stabilisation d'effluents liquides et la production de biogaz, d'alcools ou d'acides divers à partir de résidus agricoles et d'autres déchets organiques provenant de la biomasse végétale. L'amélioration des connaissances des mécanismes bio-

logiques intimes de ces bactéries de l'extrême devrait, dans un proche avenir, permettre l'amélioration de nombreux procédés industriels. En outre, l'application des techniques de biologie moléculaire à ces bactéries devrait aboutir à l'obtention d'organismes ultra-performants; par exemple, par greffe de gènes codant pour une activité enzymatique spécifique d'une bactérie extrêmophile sur une bactérie commune utilisée en microbiologie industrielle. Ainsi des résultats concrets ont été obtenus avec la dégradation de composés toxiques comme les pesticides. Le remodelage des enzymes extrêmophiles par génie génétique permettrait également d'amplifier leurs performances. La compréhension des principes qui confèrent la stabilité à haute température ou à forte salinité aux protéines de ces bactéries de l'extrême, permettrait de concevoir de nouvelles molécules ayant des propriétés catalytiques améliorées. L'intérêt des scientifiques se porte également vers la conception de biocapteurs, véritables électrodes enzymatiques, stérilisables à la chaleur, donc dérivés d'organismes thermophiles ainsi que de "puces" biologiques dans le domaine de la bioélectronique, stables à haute température. Des progrès dans ce domaine ont été enregistrés aux USA et au Japon. Le Laboratoire Orstom de Marseille, spécialisé dans le domaine de l'écologie microbienne, collabore avec le

Laboratoire de Chimie Bactérienne du Cnrs de Marseille (équipe du professeur J.P. Belaich) spécialisée dans le domaine de la biochimie et la génétique bactérienne. Certaines des souches bactériennes anaérobies strictes isolées par l'Orstom sont actuellement étudiées au Cnrs par les biochimistes et les généticiens, pour une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans l'anaérobiose. C'est le cas, par exemple, de bactéries sulfatoréductrices et d'une bactérie qui dégrade les composés aromatiques. Il est tout à fait possible d'espérer pouvoir améliorer par manipulation génétique, dans un proche avenir, certaines souches intéressantes sur le plan biotechnologique. Les bactéries extrémophiles n'ont pas fini de passionner les chercheurs. Elles ouvrent une nouvelle voie de recherche sur les formes de vie les plus primitives, leur apparition, leur développement possible dans des conditions extrêmes longtemps considérées comme incompatibles avec la vie ■

Jean-Louis Garcia
Département Milieux et Activité Agricole - Responsable de l'UR
"Biotechnologies appliquées à la productivité végétale et à la valorisation des productions agro-industrielles".

Pour en savoir plus

Ollivier B., Smiiti N., Garcia J.L. - 1985
Thermophilic methanogenesis from sugar beet pulp by a defined mixed bacterial culture. *Biotechnol. Lett.* 7, 847-852.

Ollivier B., Mah R.A., Ferguson T.J., Boone D.R., Garcia J.L., Robinson R. 1985

Emendation of the genus *Thermobacteroides*; *Thermobacteroides proteolyticus* sp. nov., a proteolytic acetogen from a methanogenic enrichment. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 35, 425-428.

Ollivier B., Smiiti N. Mah R.A., Garcia J.L.- 1986

Thermophilic methanogenesis from gelatin by a mixed defined bacterial culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 24, 79-83.

Smiiti N., Ollivier B., Garcia J.L.- 1986
Thermophilic degradation of cellulose by a triculture of *Clostridium thermocellum*, *Methanobacterium* sp. and *Methanosarcina* MP. *FEMS Microbiol. Lett.* 35, 93-97.

Daumas S., Cord-Ruwisch R., Garcia J.L.- 1988

Desulfotomaculum geothermicum sp. nov., a new thermophilic, fatty acids-degrading, sulfate-reducing bacterium isolated with H₂ from geothermal groundwater. *Antonie V. Leeuwenhoek J. Microbiol.* 54, 165-178.

Collinet M.N. - 1989

Lixiviation bactérienne par *Thiobacillus ferrooxidans* et *Thiobacillus thiooxidans* d'un concentré de flottation arsénopyriteux aurifère (réfractaire à la cyanuration directe). Thèse doctorat Biologie cellulaire et Microbiologie, Université de Provence, p. 175.

Ollivier B., Garcia J.L. - 1990

Thermophilic methanogenesis from pectin by a mixed defined bacterial culture. *Curr. Microbiol.* 66, 77-81.

Collinet M.N., Morin D. - 1990

Characterization of arsenopyrite oxidizing *Thiobacillus*. Tolerance to arsenite, arsenate, ferrous and ferric iron. *Antonie V. Leeuwenhoek* 57, 237-244.

Garcia J.L. - 1990

Taxonomy and ecology of methanogens. *FEMS Microbiol. Rev.* 87, 297-308.

Belaich J.P., Bruschi M., Garcia J.L. - 1990

Microbiology and Biochemistry of strict Anaerobes involved in Interspecies Hydrogen Transfer. *FEMS Symp.* n°54. Plenum Press, New York and London, 543 p.

Ollivier B., Hatchikian C.E., Prensier G., Guezenc J., Garcia J.L. - 1991

Desulfohalobium retbaense gen. nov., sp. nov., a halophilic sulfate-reducing bacterium from sediments of a hypersaline lake in Senegal. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41, 74-81.

Lawson Anani Soh A., Ralambotiana H., Ollivier B., Prensier G., Tine E., Garcia J.L. - 1991

Clostridium thermopalmarium sp. nov.,

a moderately thermophilic butyrate-producing bacterium isolated from palm wine in Senegal. *Syst. Appl. Microbiol.* 14, 135-139.

Glossaire

Archéobactéries

Sous-règne du règne des Procaryotes, regroupant la plupart des bactéries extrémophiles et les méthanogènes.

Biotope

Aire géographique où les facteurs écologiques gardent des valeurs à peu près constantes (exemple: température ou salinité) qui permettent le développement d'espèces particulières.

Eubactéries

Sous-règne du règne des Procaryotes, regroupant toutes les bactéries à l'exception des Archéobactéries.

Mésophilie

Domaine de température intermédiaire (20 à 40°C) pour l'activité biologique.

Inoculum

Culture de microorganismes pure ou mixte, destinée au démarrage d'une transformation biologique d'un substrat (exemple: une fermentation).

PIRSEM

Programme Interdisciplinaire de Recherche sur les Sciences pour l'Energie et les Matières premières du Cnrs.

Thiobacilles

Bactéries aérobies en forme de bâtonnet, responsables de l'oxydation des composés soufrés réduits (hydrogène sulfuré, pyrite, soufre) en sulfate.

Some bacteria like it hot

With the growing importance and potential of industrial microbiology, researchers are looking for species of microorganism that can be used in industries ranging from oil extraction and ore processing to the food industry, pharmaceuticals and bioelectronics.

One line of research is into bacteria living in extreme environments - extremes of acidity, pressure, temperature (up to 110°C) or salinity (NaCl content up to 240 g/l).

Most of these bacteria are of the Archeobacteria group, distinguished from other bacteria by a number of structural and chemical features.

These very primitive life forms split off from other bacteria at an early stage of the evolutionary process. They include many anaerobic methanogenic species and others

adapted to extreme aerobic conditions.

Orstom is studying such organisms in Africa, in the salt lakes of Senegal and Tunisia, in ore-bearing soils and in post-volcanic areas such as Lake Kivu in Zaïre. The future is promising.

Thermophilic bacteria are already used for stabilizing liquid effluent and in the production of biogas, alcohol and various acids from biomass.

Molecular biology techniques should make it possible to produce extremely high-performance strains, eg. by gene transfer to common bacteria already used in industry. Orstom is involved at this level too, and has isolated some strictly anaerobic strains now being studied by the CNRS for a more thorough understanding of the mechanisms involved.

ORSTOM

A C T U A L I T E S



LES "TEPETATES"

SAO PAULO

L'EVALUATION

CORDET

CAMPAGNE

ALIZE II

BACTERIES

DE L'EXTREME

N° 33

1991

INSTITUT
FRANCAIS
DE RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
POUR LE
DEVELOPPEMENT
EN COOPERATION

A l'Est de México, entre la plaine alluviale et la Sierra Nevada, la zone de piémont a été choisie pour étudier les sols volcaniques indurés (tepetate). L'image Spot constitue un outil qui permet d'extrapoler les résultats cartographiques obtenus dans cette zone aux trois millions d'hectares couverts par ces formations sur l'altiplano mexicain. Image SPOT Mexique du 20/12/90 (1/200 000) Traitement Orstom-L.I.A.-Téledétection - Laboratoire de photographie Annick Aing

ORSTOM

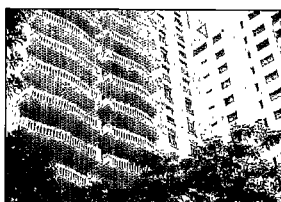
A C T U A L I T É S



Les "tepetates", récupération et mise en valeur des terres volcaniques indurées au Mexique.

2

São Paulo - La fragmentation sécuritaire d'une mégapole.



19

"Alizé II, à bord du Noroît, journal de bord d'une campagne océanographique de Panama à Nouméa, vingt-six ans après "Alizé I".



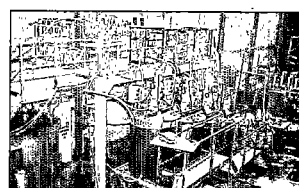
8

Une enquête de sociologie des sciences : la recherche dans les Dom-Tom.



25

Les bactéries de l'extrême - Une nouvelle voie de recherche sur les formes de vie les plus primitives.



13

Les "tepetates", récupération et mise en valeur des terres volcaniques indurées au Mexique.



30

Informations

Fonds Documentaire ORSTOM

Cole. Bx 18 649 a Ex: 1
Bx 18653

Publications

Directeur de la publication :
Louis Perrois
Rédactrice en chef :
Catherine Leduc-Leballeur
Orstom : 213, rue La Fayette
75010 Paris
Tél. : 48 03 77 77
Fax DIST : 40 34 69 13
ISSN 0758 833 X
Commission paritaire
N° 1864 ADEP
Imprimerie : Offset Arcueil
Tél. : 46 64 01 02