

## Projet de Recherche Doctoral Concours IPV 2021

### Intitulé du Projet de Recherche Doctoral :

Etude géo-biologique de stromatolites anaérobies actuelles comme modèles des stromatolites précambriens

### Directeur de Thèse porteur du projet (titulaire d'une HDR) :

NOM : **BENZERARA** Prénom : **Karim**

Titre : **Directeur de Recherche au CNRS**

e-mail : karim.benzerara@sorbonne-universite.fr

Adresse professionnelle :

Case 115, Tour 23-22 5eme

étage, 4 Place Jussieu

75005 Paris

**Unité de Recherche** : Institut de minéralogie, physique des matériaux et cosmochimie

Intitulé : IMPMC

Code : UMR7590

**Equipe de Recherche** : **BioMineralogy: history, mechanisms and applications**

Intitulé : **BioMin**

Thématique de recherche :

interactions mineral-life; BioMineralogy; Search for traces of ancient life

Responsable d'équipe :

NOM : Skouri-Panet

Prénom : Fériel

**Ecole Doctorale de rattachement de l'équipe & d'inscription du doctorant** : ED GRNE, 398

**Doctorants actuellement encadrés par le directeur de thèse (nombre de doctorants, année de 1ere inscription quotité d'encadrement) :**

Juliette Debrie, 2019, 50% CD CNRS

Juliette Gaëtan, 2020, 50%

**CO-DIRECTION** (obligatoire)

**Co-Directeur de Thèse (titulaire d'une HDR) :**

NOM : **López-García**

Prénom : Purificación

Titre : **Directrice de Recherche CNRS**

HDR



e-mail : puri.lopez@u-psud.fr

**Unité de Recherche** : **Ecologie Systématique Evolution**

Intitulé : ESE

Code: UMR 8079

**Equipe de Recherche** (au sein de l'unité) : **Diversity, Ecology and Evolution of Microbes**

Intitulé : **deem**

Thématique de recherche :

Microbial diversity and its origin; Phylogenomics and early evolution; Microbial ecology; Epigenomics and eukaryotic evolution

Responsable d'équipe :

NOM : López-García

Prénom : Purificación

**Ecole Doctorale de rattachement** :

Ou si ED non SU :

## Structure et Dynamique des systèmes vivants, ED 577

Doctorants actuellement encadrés par le co-directeur de thèse (préciser le nombre de doctorants, leur année de 1<sup>ere</sup> inscription et la quotité d'encadrement) :

Cotutelle internationale :  Non  Oui, précisez Pays et Université :

### Résumé (2 000 caractères maximum) :

Les stromatolites sont des roches carbonatées formées par des communautés microbiennes diversifiées. Les plus anciennes datent de ~3.5 Ga, constituant les traces de vie non-ambiguës les plus anciennes sur Terre, puis sont retrouvées abondamment tout au long du registre géologique. Pour interpréter les informations environnementales et biologiques que ces roches anciennes apportent, on s'appuie de manière uniformitariste/actualiste sur la connaissance des stromatolites actuelles. Dans ces dernières, les cyanobactéries ont souvent été pointées comme des acteurs majeurs de la carbonatogenèse. Or, la plupart des stromatolites actuelles se développent dans des conditions oxygénées alors que celles du registre géologique ancien se formaient en milieu anoxique ce qui impliquait vraisemblablement des acteurs et métabolismes microbiens et/ou des processus de formation très différents. Ce projet de thèse interdisciplinaire à l'interface avec le vivant se propose d'étudier des stromatolites actuelles récemment découvertes en contexte anoxique. Il visera à comprendre comment des transitions entre conditions oxiques et anoxiques impactent les communautés microbiennes associées à ces stromatolites, comment elles modifient les modalités de la précipitation minérale et si notamment des métabolismes différents deviennent alors les acteurs prédominants de la carbonatogenèse et enfin quelles traces de ces transitions peuvent être enregistrées au sein des roches ainsi formées. La thèse se déroulera principalement au sein de deux équipes spécialisées en minéralogie et en microbiologie/biologie moléculaire, ainsi qu'en interactions avec des collaborateurs isotopistes. Le travail couplera l'étude d'échantillons naturels, de mésocosmes et de souches modèles au laboratoire et l'utilisation d'outils de la microbiologie et biologie moléculaire, de la minéralogie et de la géochimie, impliquant l'acquisition d'une culture et de savoir-faire interdisciplinaires par l'étudiant.e.

**Joindre en annexe un descriptif du PRD avec références au format pdf (« NOM\_2\_IPV\_2021 » / 3 pages maximum, taille police 11)**

#### AVIS et VALIDATION de l'ECOLE DOCTORALE :

Le projet porté par K. Benzerara et P. Lopez-Garcia est par essence à l'interface avec le vivant. Les travaux sur la biosphère archéenne ont un écho phénoménal dans de nombreux champs disciplinaires et K. Benzerara est un des explorateurs les plus éminents de cette frontière. Ce PRD se traduira assurément par des contributions à fort impact. Du point de vue de l'encadrement doctoral, K. Benzerara a un excellent "record" avec en fait peu de thèses sur CD SU au cours des dernières années. La présente demande de CD serait regardée avec beaucoup d'attention par l'ED GRNE si elle 'n'était pas autant tournée vers les analogues vivants des stromatolithes anciens. Certain que ce sujet attirera des candidats de haute volée, je valide sans hésiter le présent projet.

L. Labrousse, Dir. ED GRNE



Loïc LABROUSSE  
Directeur Ecole Doctorale  
GRNE 398

**à envoyer simultanément par e-mail à l'ED de rattachement et au programme : [interfaces\\_pour\\_le\\_vivant@listes.upmc.fr](mailto:interfaces_pour_le_vivant@listes.upmc.fr) avant le lundi 15 février minuit.**

## Etude géo-biologique de stromatolites anaérobies actuelles comme modèles des stromatolites précambriennes

### Contexte

Avant l'Explosion Cambrienne, il y a près de 600 millions d'années et pendant la plupart de l'histoire terrestre, la vie était exclusivement microbienne. Sur des surfaces océaniques et continentales exposées à la lumière, les communautés microbiennes s'organisaient en tapis phototrophes dont certains favorisaient la précipitation de carbonates, conduisant à la formation de microbialites, souvent laminées (stromatolites), qui ont été préservées dans le registre fossile<sup>1</sup>. Des stromatolites fossiles datant de ~3.5 Ga constituent ainsi les traces de vie non-ambiguës les plus anciennes sur Terre<sup>2</sup>. L'apparition de la photosynthèse oxygénique chez un groupe particulier de bactéries, les cyanobactéries, a dans un premier temps conduit au développement d'oasis oxygénées dans un océan anoxique<sup>3</sup>. Ainsi des épisodes courts aux échelles de temps géologiques alternant conditions oxiques et anoxiques ont été enregistrés dans les archives géologiques<sup>4</sup>. Puis, la photosynthèse oxygénique a eu des conséquences capitales à l'échelle planétaire, dont le grand événement d'oxygénation (GOE) de l'atmosphère à partir de 2.5 Ga<sup>5</sup>. Avant cette époque, les communautés microbiennes phototrophes utilisaient des photosynthèses anoxygéniques dépendant des donneurs d'électrons différents de la molécule de H<sub>2</sub>O (p.ex. H<sub>2</sub>S, Fe<sup>2+</sup>, H<sub>2</sub>). Mais, même après l'apparition des cyanobactéries et le GOE, pendant le Protérozoïque (2.5-0.54 Ga), l'essentiel des océans restait anoxique en dessous d'une certaine profondeur alors que les stromatolites fossiles dominent le registre fossile.

Pour interpréter les informations environnementales et biologiques apportées par ces microbialites anciennes, on s'appuie de manière uniformitariste/actualiste sur la connaissance des microbialites actuelles. Dans ces dernières, les cyanobactéries ont souvent été pointées comme des acteurs majeurs de la carbonatogenèse. En effet, certaines cyanobactéries induisent la précipitation de carbonates en alcalinisant localement le milieu de manière à ce que, en présence de cations (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) des carbonates précipitent spontanément en conditions oxiques<sup>6</sup>. En revanche, en conditions anoxiques, l'apparition de concentrations élevées en sulfures est toxique pour de nombreuses cyanobactéries et inhibe notamment la photosynthèse oxygénique, même si certaines espèces de cyanobactéries sont capables de changer de métabolisme et de faire de la photosynthèse anoxygénique en oxydant les sulfures<sup>7</sup>.

Comme évoqué, les conditions environnementales au Précambrien étaient très différentes des conditions actuelles, notamment en terme d'oxygénation et par conséquent de biodisponibilité de différentes espèces chimiques comme le fer, le phosphore, les sulfures etc... Ceci modifiait très vraisemblablement les modes de fonctionnement de ces communautés microbiennes calcifiantes. Par conséquent, des questions restent complètement ouvertes : comment les communautés phototrophes précambriennes formaient-elles des carbonates en milieu anoxique ? Est-ce que la calcification a pu résulter d'autres activités métaboliques microbiennes que les photosynthèses, comme l'oxydation des sulfures dépendante du nitrate ou l'oxydation anaérobie du méthane couplée à la sulfato-réduction ? Quels types de phases carbonatées étaient formés ? Etaient-ils riches en éléments de transition (Fe, Mn) ou non ? Quel était le potentiel de fossilisation microbienne dans ces conditions et quel type de biosignatures pouvait être préservé ?

Nous étudions depuis quelques années des microbialites se formant à faible profondeur d'eau dans les lacs alcalins de cratère d'Alchichica et d'Atexcac (Mexique). Ces lacs se stratifient en été, devenant pendant plusieurs mois complètement anoxiques en dessous de ~22 m, comme révélé par des mesures *in situ* de profils de différents paramètres physico-chimiques de la colonne d'eau dont la pO<sub>2</sub> et le potentiel redox.

---

<sup>1</sup> Bosak T. et al (2013) Ann. Rev. Earth Planet. Sci., 41, 21-44

<sup>2</sup> Lepot K. (2020) Earth Sci. Rev. 209, 103296

<sup>3</sup> Crowe SA et al. (2013) Nature, 501, 535 -+

<sup>4</sup> Koehler MC et al. (2018) PNAS, 115, 7711-7716.

<sup>5</sup> Sanchez-Baracaldo P. & Cardona T. (2020) New Phytologist, 225, 1440-1446.

<sup>6</sup> Gørgen S, Benzerara K et al. (2021) Discov Mater 1, 2

<sup>7</sup> Dick GJ et al. (2018) Ann. Rev. Earth Planet. Sci., 46, 123-147.

Or, de manière intéressante, nous avons découvert et échantillonné dans ces lacs, lors de notre dernière campagne de Mai 2019, des microbialites à ces profondeurs anoxiques, où la lumière pénètre encore. Avec, respectivement, 10 mM et 2 mM de soufre en solution, les colonnes d'eau anoxiques d'Alchichica et d'Atexcac constituent des bons analogues de l'océan au Protérozoïque. Ainsi, bien qu'extrêmement rares, de telles microbialites actuelles, vivant au moins temporairement en contexte anoxique, pourraient constituer d'intéressants analogues des microbialites précambriennes et fournir quelques éléments de réponse aux questions posées ci-dessus, à conditions bien sûr de mieux comprendre ce qui se passe lorsqu'elles subissent ces transitions oxiqes-anoxiques.

### **Objectifs de la thèse**

Dans ce projet de thèse, nous proposons d'étudier ces microbialites en contexte anoxique pour essayer de répondre plus précisément aux questions suivantes : Y-a-t-il croissance des microbialites en conditions anoxiques ? Si oui, en lien avec l'activité métabolique de quels microorganismes ? Phototrophes ou chimiotrophes ? Comment le passage de conditions oxiqes à anoxiques et vice-versa affectent/modifient la diversité phylogénétique et l'activité métabolique des communautés microbiennes associées à ces microbialites ? Est-ce que ces variations corrént avec des signatures isotopiques (C, S, N) particulières ? Enregistre-t-on ces variations d'oxygénation et de potentiel redox dans (i) la composition minéralogique (e.g. aragonite [CaCO<sub>3</sub>] vs siderite [FeCO<sub>3</sub>]/ankerite [Ca,Mg,Fe)CO<sub>3</sub>]) et/ou (ii) la composition chimique élémentaire des éléments majeurs (e.g. Fe, Mn) et/ou (iii) des traces (e.g. métaux de transition) des stromatolites? Quel est le potentiel de fossilisation des microorganismes dans ces conditions ?

### **Matériel biologique et méthodologies**

Pour y répondre, la thèse combinera trois approches :

- des études sur des échantillons naturels du Mexique. Des échantillons de différentes profondeurs, notamment au-dessus et en-dessous de la profondeur de pénétration de l'O<sub>2</sub>, sont déjà disponibles et de futurs échantillons seront collectés en lien avec nos collaborateurs de l'université nationale autonome du Mexique (UNAM). Cette approche consistera à combiner (i) une caractérisation des communautés microbiennes et de leur potentiel fonctionnel par des approches moléculaires (metabarcoding et metagénomique), (ii) la caractérisation des phases minérales (diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge) et des compositions isotopiques et en éléments traces et (iii) une caractérisation par une approche corrélatrice de microscopies (microscopie optique pétrographique, microscopie électronique à balayage couplée à l'EDX et microscopie micro-XRF) qui permettra de réconcilier à l'échelle submicrométrique l'ensemble des données établies à l'échelle macroscopique et d'identifier de possibles hétérogénéités liées aux variations oxiqes-anoxie.

- une étude d'échantillons de microbialites maintenus en mésocosme en laboratoire. Des biofilms ont été maintenus au laboratoire dans des conditions proches de celles mesurées *in situ* dans les lac et nous avons montré qu'il était ainsi possible de maintenir une grande part de la diversité microbienne originelle<sup>8</sup>. Ces échantillons seront soumis à des cycles oxiqes/anoxie au laboratoire sur des périodes mensuelles afin d'identifier les variations de composition taxonomique des communautés microbiennes (metabarcoding) et d'expression des gènes (metatranscriptomique), notamment pour comprendre quelles grandes voies métaboliques sont activées/désactivées dans ces conditions et selon quelle cinétique ; (ii) certains échantillons seront transférés en anoxie sur un plus long terme pour analyser les différences avec l'état initial. En parallèle les compositions chimique et isotopique des sulfates et du carbone inorganique dissous des eaux seront mesurés et les spéciations des éléments et équilibres chimiques seront modélisés à l'aide de codes de calcul de type Visual Minterq et PHREEQC.

- étude de la carbonatogenèse par des souches modèles de cyanobactéries capables d'une transition entre photosynthèse oxygénique et anoxygénique : plusieurs souches axéniques, disponibles en collection et

---

<sup>8</sup> Couradeau E. et al. (2011) PLoS One. 2011;6(12):e28767.

notamment celle de l'institut Pasteur, sont capables de « switcher » entre ces métabolismes selon la pO<sub>2</sub> et la teneur en sulfures. L'étudiant.e déterminera si l'une de ces souches est plus ou moins calcifiante lorsqu'elle fait la photosynthèse oxygénique ou anoxygénique. Pour cela, des cultures au laboratoire seront menées avec un suivi des compositions chimiques des solutions, minéralogique des précipités formés, et microscopie des assemblages minéraux/cellules. Notamment, en cas de précipitation, il sera déterminé si les cellules s'encroûtent dans les minéraux en formant des microfossiles. Les taux de calcification seront comparés à ceux obtenus dans la littérature pour des bactéries faisant la photosynthèse anoxygénique.

### **Moyens à disposition du doctorant/expertise des laboratoires impliqués**

La thèse bénéficiera des compétences et des moyens existant à l'IMPIC et à l'ESE. Les équipes de deux coordinateurs, P. López-García et Karim Benzerara, maintiennent une collaboration interdisciplinaire depuis une quinzaine d'années. Cette collaboration à l'interface de la biologie et des géochimie-géosciences a été fructueuse, avec une thèse co-dirigée (E. Couradeau, soutenue en 2012) et 25 articles co-signés dont un certain nombre dans des journaux à fort impact (Science, 2 PNAS, Nature Microbiol, Nature Ecol Evol, Curr Biol, ISME J). Ils ont également participé ensemble à 6 expéditions de terrain (3 fois au Mexique, Sardaigne, Auvergne et Ethiopie). La thèse bénéficiera de plus des compétences en géochimie isotopique chez notre collaborateur à l'université de Bourgogne à Dijon (Christophe Thomazo) qui a participé à la campagne de collecte d'échantillon au Mexique en 2019.

L'équipe « Biomin » de l'IMPIC étudie les interactions microorganismes-minéraux avec une expertise dans la culture de microorganismes phototrophes et anaérobies (plateformes GEMME et GEODES équipées d'incubateurs pour les phototrophes, et de boîtes à gants sous différentes atmosphères anoxiques) et la caractérisation des phases minérales et des assemblages minéraux/microorganismes par spectroscopies (Raman, infra-rouge, absorption X) et microscopies (confocal, MEB et MET - en lien avec M. Trichet de l'IBPS pour le cryo-MEB). Elle dispose d'accès fréquents aux synchrotrons notamment le STXM (e.g., SOLEIL) et les lignes de micro-XRF pour les traces.

L'équipe « Diversité, Ecologie et Evolution Microbiennes » de l'ESE étudie la diversité microbienne par des techniques moléculaires comme le séquençage massif de gènes marqueurs (16S/18S rRNA) ou la métagénomique. Elle a des compétences en microbiologie classique (isolement et caractérisation de microorganismes procaryotes et eucaryotes), écologie microbienne, phylogénie et génomique, et des approches bioinformatiques pour l'analyse de grands jeux de données de séquences.

### **Quelques publications impliquant les co-directeurs en lien avec le sujet (parmi 25 ; \*étudiant en thèse ou postdoc premier auteur)**

\*Iniesto M, Moreira D, Reboul G, Deschamps P, **Benzerara K**, Bertolino P, Saghāi A, Tavera R and **López-García P** (2020). Core microbial communities of lacustrine microbialites sampled along an alkalinity gradient and fast colonization dynamics. *Environmental Microbiology*, *in press*

\*Belilla J, Moreira D, Jardillier L, Reboul G, **Benzerara K**, López-García JM, Bertolino P, López-Archilla AI, **López-García P** (2019). Hyperdiverse archaea near life limits at the polyextreme geothermal Dallol area. *Nature Ecology & Evolution*, 3, 1552–1561.

\*Zeyen N, **Benzerara K**, Menguy N, Brest J, Templeton A, Webb S, Gérard E, Moreira D, **Lopez-Garcia P**, Tavera R, Morin G. (2019) Origin of high Fe contents in modern lacustrine microbialites from Mexico. *Geochim Cosmochim Acta*, 253, 201-230.

\*Saghāi A, Y Zivanovic, N Zeyen, D Moreira, **K Benzerara**, P Bertolino, M Ragon, R Tavera, AI López-Archilla and **P López-García** (2015) Metagenome-based diversity analyses suggest a significant contribution of non-cyanobacterial lineages to carbonate precipitation in modern microbialites. *Frontiers in Microbiology*, 6:797. doi: 10.3389/fmicb.2015.00797.

**Benzerara K.**, (...), **P López-García**, and D Moreira (2014) Intracellular Ca-carbonate biomineralization is widespread in cyanobacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 10933-10938.

\*Couradeau E., **Benzerara K.**, Gérard E., Moreira D., Bernard S., Brown Jr. GE., **López-García P.** 2012. An early-branching microbialite cyanobacterium forms intracellular carbonates. *Science*, 336, 459-462.