

**Thibault DUTEIL**

**Composition, propriétés et préservation des substances exopolymériques dans les sédiments estuariens : implications pour les cycles biogéochimiques et la diagenèse précoce.**

**RESUME**

Des biofilms benthiques se développent à la surface des zones intertidales dans les estuaires. Ces biofilms correspondent à une association de microorganismes principalement photoautotrophes, principalement des diatomées, associés entre eux et fixés à la surface des sédiments grâce à la sécrétion d'une matrice extracellulaire adhésive composée de substances exopolymériques (EPS). Les EPS sont constituées d'un assemblage de molécules de différentes tailles, principalement des polysaccharides et des protéines, ayant des propriétés physico-chimiques variables. Certaines de ces molécules possèdent une forte réactivité, une capacité à interagir avec des éléments (cations, molécule d'eau, etc.) de l'environnement, ce qui permet aux EPS d'assurer de nombreux rôles pour la communauté microbienne constituant le biofilm : protection contre la dessiccation, protection contre certains polluants et pathogènes, fixation au substratum et migration dans les sédiments, accumulation de nutriments issus de l'environnement, limitation de l'érosion, etc. Ainsi les diatomées à travers la production d'EPS sont de plus en plus considérées comme des bio-ingénieurs des écosystèmes. Les EPS sont produites principalement en surface et sont progressivement dégradées et consommées par des microorganismes hétérotrophes en profondeur. Bien que les propriétés des EPS des biofilms de surface soient maintenant bien connues, leur préservation et leur évolution durant l'enfouissement et au cours de la diagenèse précoce restent méconnus.

Dans cette thèse, j'ai caractérisé les propriétés physico-chimiques des EPS extraites de biofilms à diatomées, ainsi que de sédiments du point bar fluvio-estuarien de Bordeaux-Nord, dans

l'estuaire de la Gironde. Une fois les EPS des biofilms de surface caractérisées, j'ai testé en laboratoire leur rôle dans l'aggrégation des sédiments détritiques (minéraux argileux et sable). Les propriétés des EPS ont été ensuite analysées dans des carottes sédimentaires allant jusqu'à plus de 6 mètres de profondeur afin d'évaluer leur préservation. Ces résultats sont ensuite comparés (i) aux propriétés des sédiments (faciès, granulométrie, carbone organique total, etc.), (ii) à des mesures chimiques des eaux porales, ainsi qu'à (iii) des mesures des activités métaboliques et enzymatiques microbienne. L'objectif principal est d'établir un modèle géomicrobiologique de l'évolution des sédiments estuariens au cours de la diagenèse précoce incluant pour la première fois le rôle des EPS. Enfin le rôle des EPS dans l'aggrégation de sédiments détritiques sera testé au laboratoire.

Dans l'estuaire de la Gironde, des EPS réactifs (i.e., acides) sont produits abondamment en surface des sédiments par les biofilms à diatomées. Ces EPS sont composées de polysaccharides et de protéines qui comportent des fonctions chimiques réactives comme des acides carboxyliques. La quantité et la réactivité des EPS diminue dans les premiers décimètres du sédiment. Cette diminution coïncide avec le maximum d'activité métabolique microbienne, indiquant leur probable dégradation par des organismes hétérotrophes. Néanmoins, certains horizons profonds du carottage long (à plus 4 mètres de profondeur) ont fourni des EPS en concentration et ayant une acidité comparable aux biofilms de surface. Cette préservation pourrait s'expliquer par des conditions sédimentaires particulières. Une période de sédimentation à dominante tidale pourrait ainsi permettre le développement du point bar ainsi qu'une stabilité des zones intertidales sur des échelles pluri-décennales. Cette zone étendue et stable permettrait le développement des biofilms et la production d'EPS. A l'inverse, une période dominée par les crues fluviales induirait une migration du point bar, une érosion plus importante des zones intertidales, impliquant une préservation limitée des EPS. D'importantes variations de la concentration d'éléments (oxygène, nitrate, sulfate, manganèse et fer) nécessaires au métabolisme microbiens sont observées dans le premier mètre des sédiments ainsi qu'une activité microbienne élevée. Dans le sédiment, les métabolismes microbiens sont stratifiés selon un gradient de métabolites fournissant une énergie décroissante lors de leur réduction : oxygène, nitrate, sulfate, manganèse et fer. Dans les carottes étudiées, l'activité microbienne est fortement réduite en dessous du premier mètre, ce qui coïncide avec la diminution des accepteurs d'électrons potentiels. De ce fait, les EPS, qui servent de source de carbone organique aux microorganismes hétérotrophes, ont un plus fort potentiel de préservation à des profondeurs supérieures à un mètre. Les résultats des gradients géochimiques de l'eau porale expliquent donc probablement en partie la préservation des EPS. Les

métabolismes microbiens impactent également la géochimie du sédiment et des eaux porales (pH, oxydo-réduction, etc.), créant les conditions pour la précipitation de phases minérales métalliques métastables, telles que des sulfures ou des oxydes. Des modélisations de précipitation-dissolution sous phreeQC montrent que de telles phases ont le potentiel de précipiter dans certains horizons sédimentaires : la mackinawite ou la pyrite dans la zone de réduction des sulfates (entre 4 et 18 cm de profondeur) ou la ferrihydrite ou l'hématite dans des zones plus profondes (entre 18 et 35 cm de profondeur) via des processus de ré-oxydation du sédiment. Dans les environnements carbonatés, les EPS sont connues pour favoriser (ex. silicates magnésiens) ou inhiber (ex. carbonates) la précipitation de phases minérales. Dans les sédiments étudiés, les seuls minéraux authigènes observés sont de rares pyrites, impliquant un potentiel rôle inhibiteur de ces EPS. En revanche, mes observations en cryo-microscopie électronique ont montré que les EPS forment des complexes organo-minéraux avec les sédiments estuariens (sables, silt, mica et argile), et que ces complexes peuvent être préservés de la surface du sédiment jusqu'à au moins à 6 mètres d'enfouissement. Nous avons mené une série d'expériences en laboratoire impliquant des mélanges entre des EPS purifiés de l'estuaire de la Gironde et des minéraux standards (argiles et quartz). Nos expériences ont résulté en la formation d'enveloppes d'argiles et d'EPS autour des grains de sables, autrement appelés clay-coats détritiques, et ont démontré le rôle de colle organique joué par les EPS dans les sédiments détritiques. Ces clay-coats ont été retrouvés dans de nombreux grès estuariens anciens.

Les EPS préservées en profondeur ont ainsi un fort potentiel pour la cohésion des sédiments, mais pourraient également jouer un rôle dans la précipitation de phases minérales pendant la diagenèse d'enfouissement. Les résultats de cette étude peuvent servir de base à de futures études sur les rôles des EPS dans d'autres environnements sédimentaires détritiques. Enfin, ces résultats apportent de nouvelles idées pour l'interprétation des processus sédimentaires anciens, des transformations minérales diagénétiques et dans la recherche de biosignatures.

Mots clés : biofilms à diatomées, substances exopolymériques, estuaire de la Gironde, carotte sédimentaire, clay-coat, sable, argile, caractérisation physico-chimique, eau porale, géochimie, métabolismes microbiens, activité microbienne, microbiologie

# **Composition, properties and preservation of Exopolymeric Substances in estuarine sediments: implications for biogeochemical cycles and early diagenesis.**

## **ABSTRACT**

Benthic biofilms develop on the surface of intertidal zones in estuaries. These biofilms correspond to an association of principally photoautotrophic microorganisms, mainly diatoms, associated with each other and attached to the surface of the sediment by the secretion of an adhesive extracellular matrix composed of exopolymeric substances (EPS). The EPS are composed of different sizes molecules, mainly polysaccharides and proteins, with variable physicochemical properties. Some of these molecules have a strong reactivity, a capacity to interact with elements (cations, water molecule, etc.) of the environment, which allows EPS to ensure many roles for the microbial community constituting the biofilm: protection against desiccation, protection against certain pollutants and pathogens, attachment to the substratum and migration in sediments, accumulation of nutrients from the environment, limitation of erosion, etc. Thus, diatoms, through the production of EPS, are more and more considered as ecosystem bioengineers. EPS are produced mainly at the surface and are progressively degraded and consumed by heterotrophic microorganisms at depth. Although the properties of EPS in surface biofilms are now well known, their preservation and evolution during burial and early diagenesis remain poorly understood.

In this thesis, I characterized the physico-chemical properties of EPS extracted from diatom biofilms, as well as from sediments of the fluvio-estuarine point bar of Bordeaux-Nord, in the Gironde estuary. Once the EPS of the surface biofilms were characterized, I tested in the laboratory their role in the aggregation of detrital sediments (clay minerals and sand). The properties of the EPS were then analyzed in sediment cores up to more than 6 meters deep to assess their preservation. These results are then compared to (i) sediment properties (facies, grain size, total organic carbon, etc.), (ii) chemical measurements of pore waters, and (iii) measurements of microbial metabolic and enzymatic activities. The main objective is to establish a geomicrobiological model of the evolution of estuarine sediments during early diagenesis including for the first time the role of EPS. Finally, the role of EPS in the aggregation of detrital sediments will be tested in the laboratory.

In the Gironde estuary, reactive (i.e., acidic) EPS are produced abundantly on the sediment surface by diatom biofilms. These EPS are composed of polysaccharides and proteins that

contain reactive chemical functions such as carboxylic acids. The amount and reactivity of EPS decreases in the first few decimeters of the sediment. This decrease coincides with the maximum microbial metabolic activity, indicating their probable degradation by heterotrophic organisms. Nevertheless, some deep horizons of the long core (at more than 4 meters depth) provided EPS in concentration and with an acidity comparable to the surface biofilms. This preservation could be explained by particular sedimentary conditions. A period of predominantly tidal sedimentation could thus allow the development of the bar point as well as a stability of the intertidal zones on multi-decadal scales. This extended and stable zone would allow the development of biofilms and the production of EPS. Conversely, a period dominated by river floods would induce a migration of the bar point, a more important erosion of the intertidal zones, implying a limited preservation of the EPS. Important variations in element concentration (oxygen, nitrate, sulfate, manganese and iron) necessary for microbial metabolism are observed in the first meter of the sediment as well as a high microbial activity. In the sediment, microbial metabolisms are stratified according to a gradient of metabolites providing a decreasing energy during their reduction: oxygen, nitrate, sulfate, manganese and iron. In the cores studied, microbial activity is strongly reduced below the first meter, coinciding with the decrease in potential electron acceptors. As a result, EPS, which serve as a source of organic carbon for heterotrophic microorganisms, have a greater potential for preservation at depths greater than one meter. Thus, the results of pore water geochemical gradients probably explain in part the preservation of EPS. Microbial metabolisms also impact sediment and pore water geochemistry (pH, redox, etc.), creating conditions for the precipitation of metastable metal mineral phases, such as sulfides or oxides. Precipitation-dissolution modelling under *phreeQC* shows that such phases have the potential to precipitate in certain sedimentary horizons: mackinawite or pyrite in the sulphate reduction zone (between 4 and 18 cm depth) or ferrihydrite or hematite in deeper zones (between 18 and 35 cm depth) via sediment re-oxidation processes. In carbonate environments, EPS are known to promote (e.g. magnesian silicates) or inhibit (e.g. carbonates) the precipitation of mineral phases. In the studied sediments, the only authigenic minerals observed are rare pyrites, implying a potential inhibitory role of these EPS. On the other hand, my cryo-electron microscopy observations showed that EPS formed organo-mineral complexes with estuarine sediments (sands, silt, mica and clay), and that these complexes could be preserved from the sediment surface to at least 6 meters of burial. We conducted a series of laboratory experiments involving mixtures between purified EPS from the Gironde estuary and standard minerals (clays and quartz). Our experiments resulted in the formation of envelopes of clays and EPS around sand grains, otherwise known as detrital clay

coats, and demonstrated the role of organic glue played by EPS in detrital sediments. These clay-coats have been found in many ancient estuarine sandstones.

Thus, EPS preserved at depth have a strong potential for sediment cohesion, but could also play a role in the precipitation of mineral phases during burial diagenesis. The results of this study can serve as a basis for future studies on the roles of EPS in other detrital sedimentary environments. Finally, these results provide new insights into the interpretation of ancient sedimentary processes, diagenetic mineral transformations and in the search for biosignatures.

Key words: diatom biofilms, exopolymeric substances, Gironde estuary, sediment core, clay-coat, sand, clay, physicochemical characterization, pore water, geochemistry, microbial metabolisms, microbial activity, microbiology