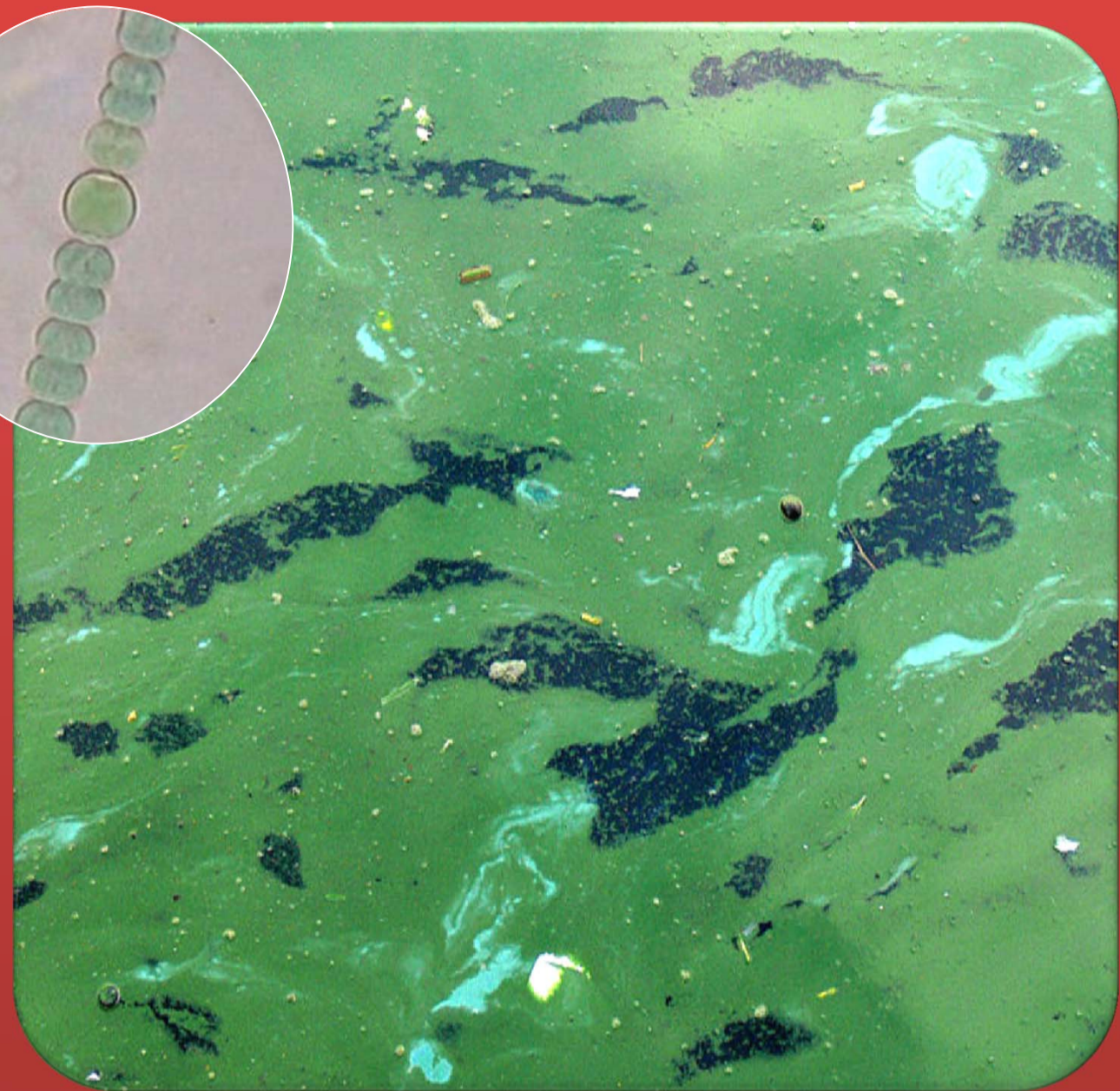


Etude AFM en phase liquide de cyanobactéries : vers les expériences SECM.



Samia Dhahri¹, Christian Marlière¹, Michel Ramonda², Rutger de Wit³

1. Géosciences Montpellier, Université Montpellier 2, UMR CNRS 5243
2. LMCP, Université Montpellier 2.
3. ECOSYM, Université Montpellier 2, UMR CNRS, UM1, UM2, IFREMER 5119



Tapis de cyanobactéries (Eau polluée)

Contexte général

- La présence de matière biologique, microbienne en particulier, dans les sites de stockage géologique profonds -que ce soit des déchets (radioactifs par exemple) ou encore de l'eau potable des aquifères est devenue une évidence. Cette biomasse a une activité physico-chimique considérable qui peut avoir des répercussions importantes sur la durabilité et la pérennité de ces sites de stockage.
- Ainsi, elle intervient dans les réactions de dissolution et re-précipitation des roches, différents processus peuvent en résulter comme le **colmatage**, la **fermeture** ou l'**ouverture de chemins d'écoulement**. Les microorganismes sont aussi capables d'**interagir avec de nombreux composés** (en solution ou en phase solide) ayant éventuellement pu migrer au travers des parois du dispositif de stockage, en produisant divers métabolites et biomolécules.
- la compréhension et le contrôle de ces processus, principalement de type oxydo-réductif, est donc cruciale. La démarche qu'on retrouve actuellement est principalement macroscopique ; ceci est limitant car seules des études en laboratoire, basées sur des méthodes d'investigation locale (à l'échelle d'une bactérie) peuvent apporter les informations requises.

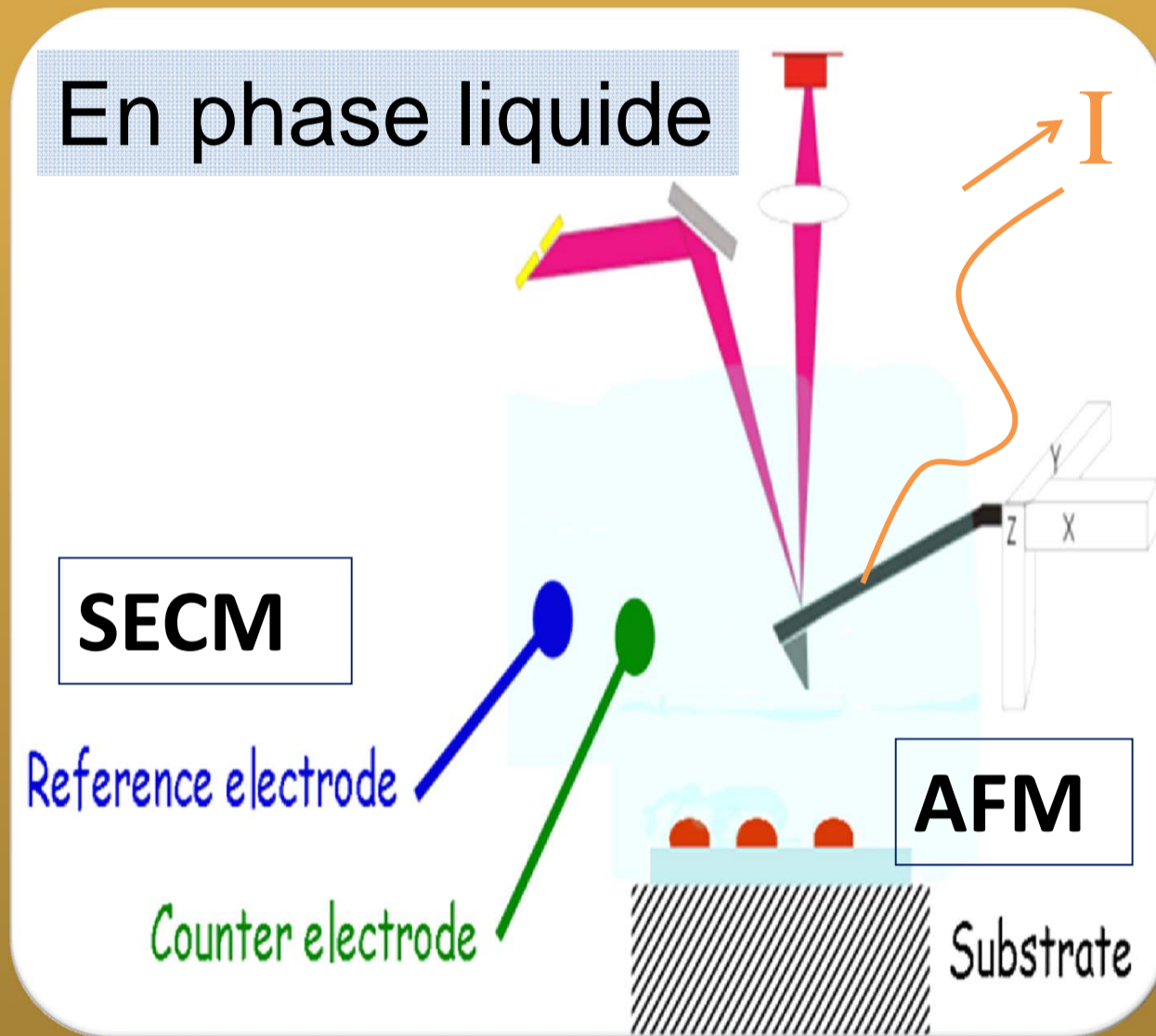
Démarche

Mise au point de méthodes d'investigation locale, permettant d'accéder aux dimensions caractéristiques des cellules ou des bactéries (micromètre et en deçà).

Le dispositif à mettre au point est l'utilisation combinée des techniques de microscopie à force atomique (**AFM**) et de microscopie électrochimique à sonde locale (**SECM**) afin d'obtenir, indépendamment, des informations sur **la topographie** de l'échantillon et sur **les processus électrochimiques** à l'échelle des bactéries.

Pour réussir ce montage expérimental, deux points sont à maîtriser

- 1. Immobiliser les bactéries pour pouvoir les imager en **AFM liquide**
- 2. Fabriquer des cantilevers **SECM-AFM** (non développé dans ce poster, travaux en cours)



Mise au point expérimentale

Notre premier objectif a été de trouver les conditions d'immobilisation des bactéries sur le substrat permettant l'imagerie AFM en milieu *liquide*.

AFM : atmosphère gazeuse

Les images AFM (mode *contact*) obtenues en atmosphère gazeuse sont de bonnes qualités dans des conditions assez faciles à réaliser (Exemples : Figures 1 et 2).

Fig. 1 : complexe poral de jonction

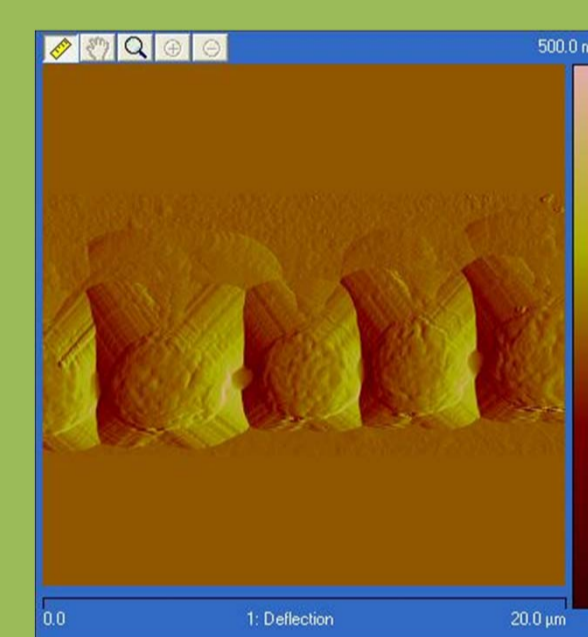
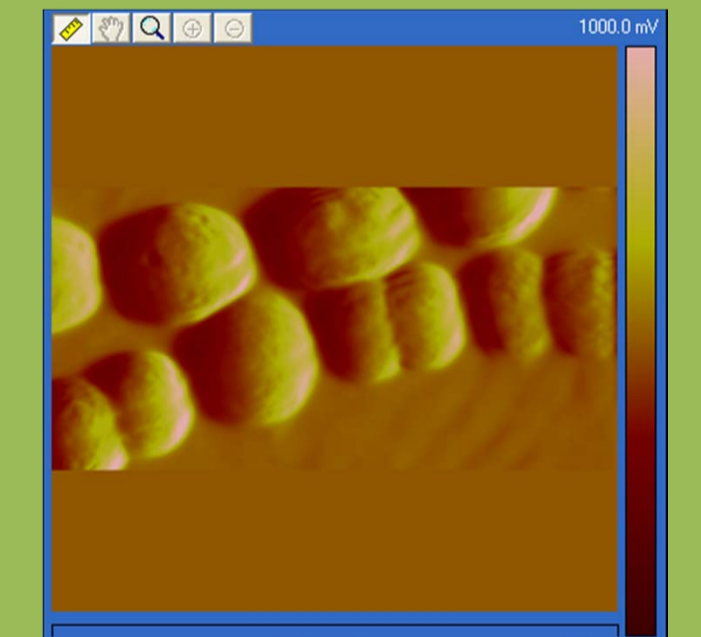
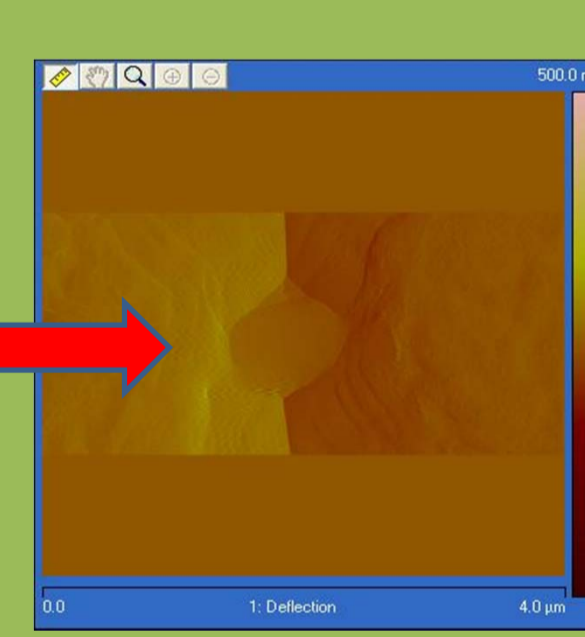


Fig. 2 : Division par fission binaire symétrique



AFM : milieu liquide

En ce qui concerne l'imagerie AFM en milieu liquide et en mode *contact*, même avec des conditions douces, les bactéries déposées sur des lames de microscope sont déplacées par le mouvement de la pointe qui balaie leur surface (Figure 3 et 4), et on n'arrive pas à les imager (Figure 5).

Figures 3 et 4 : Imagerie AFM en milieu liquide, La bactérie se déplace sous l'effet de la pointe

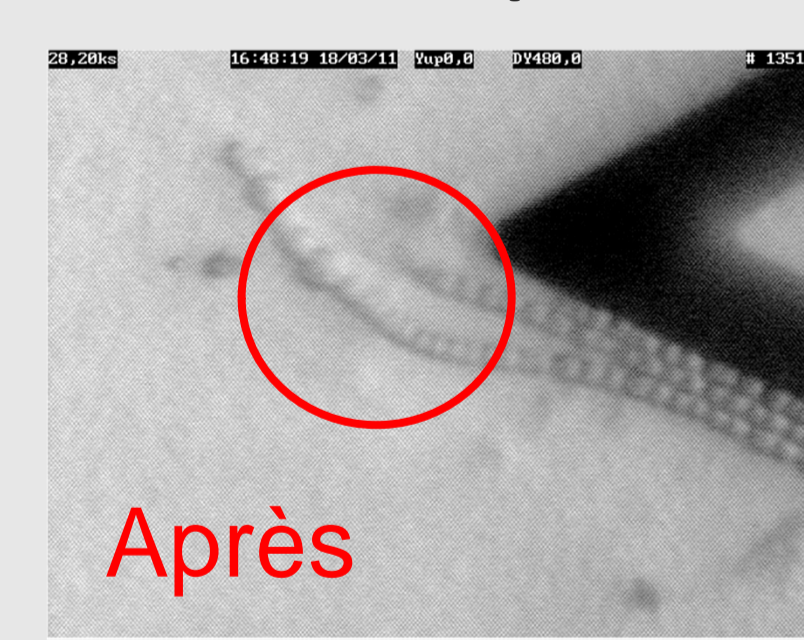
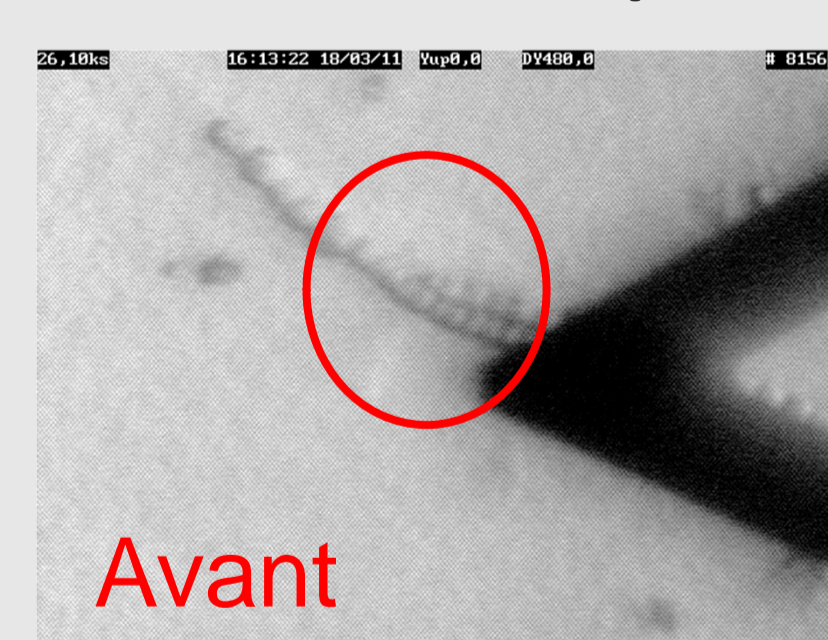
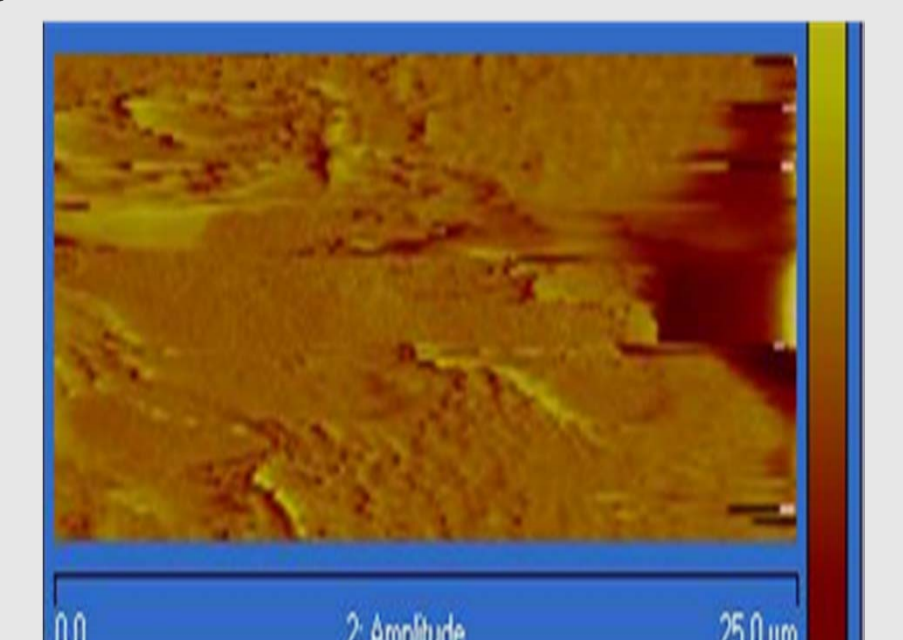
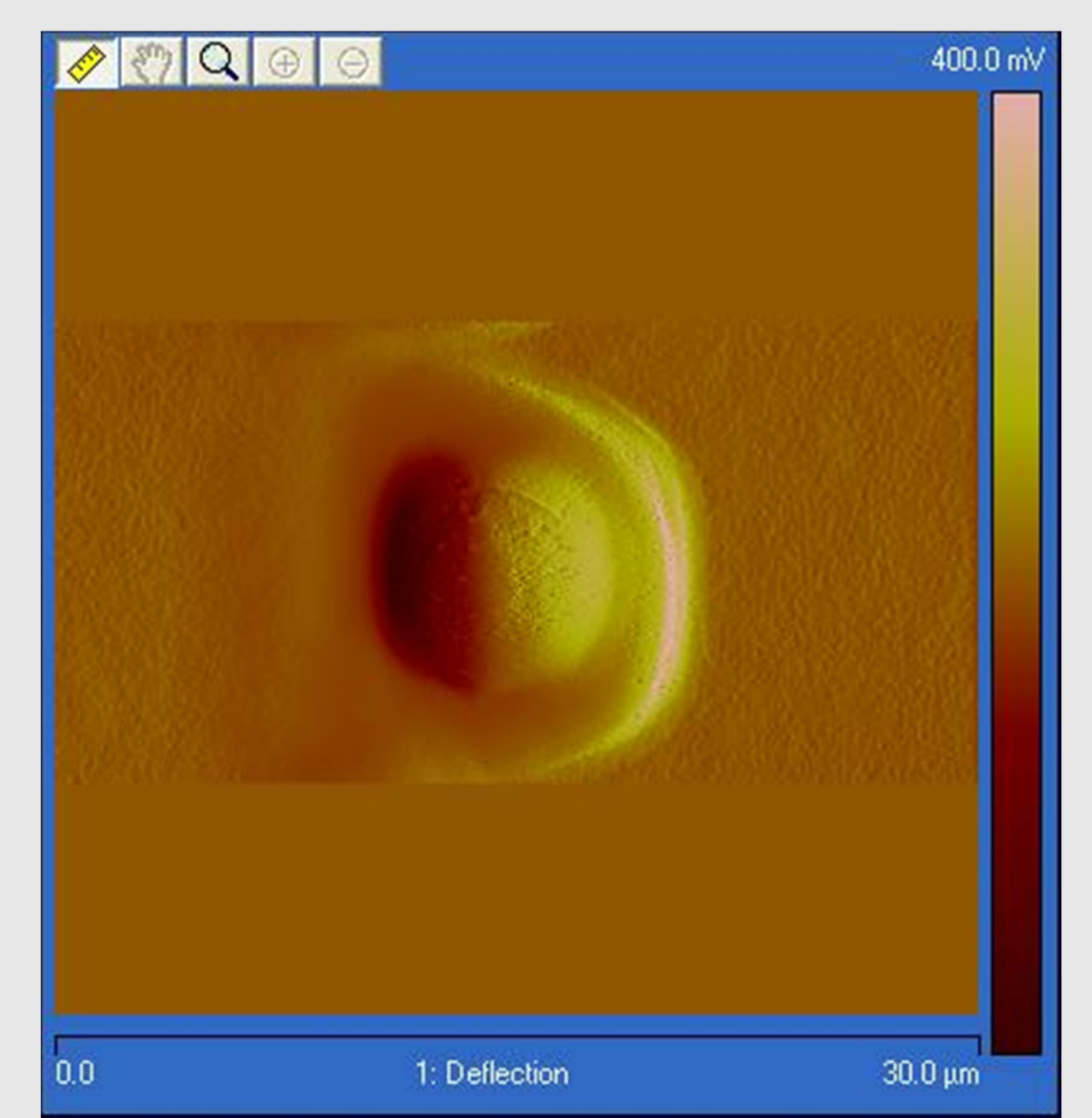
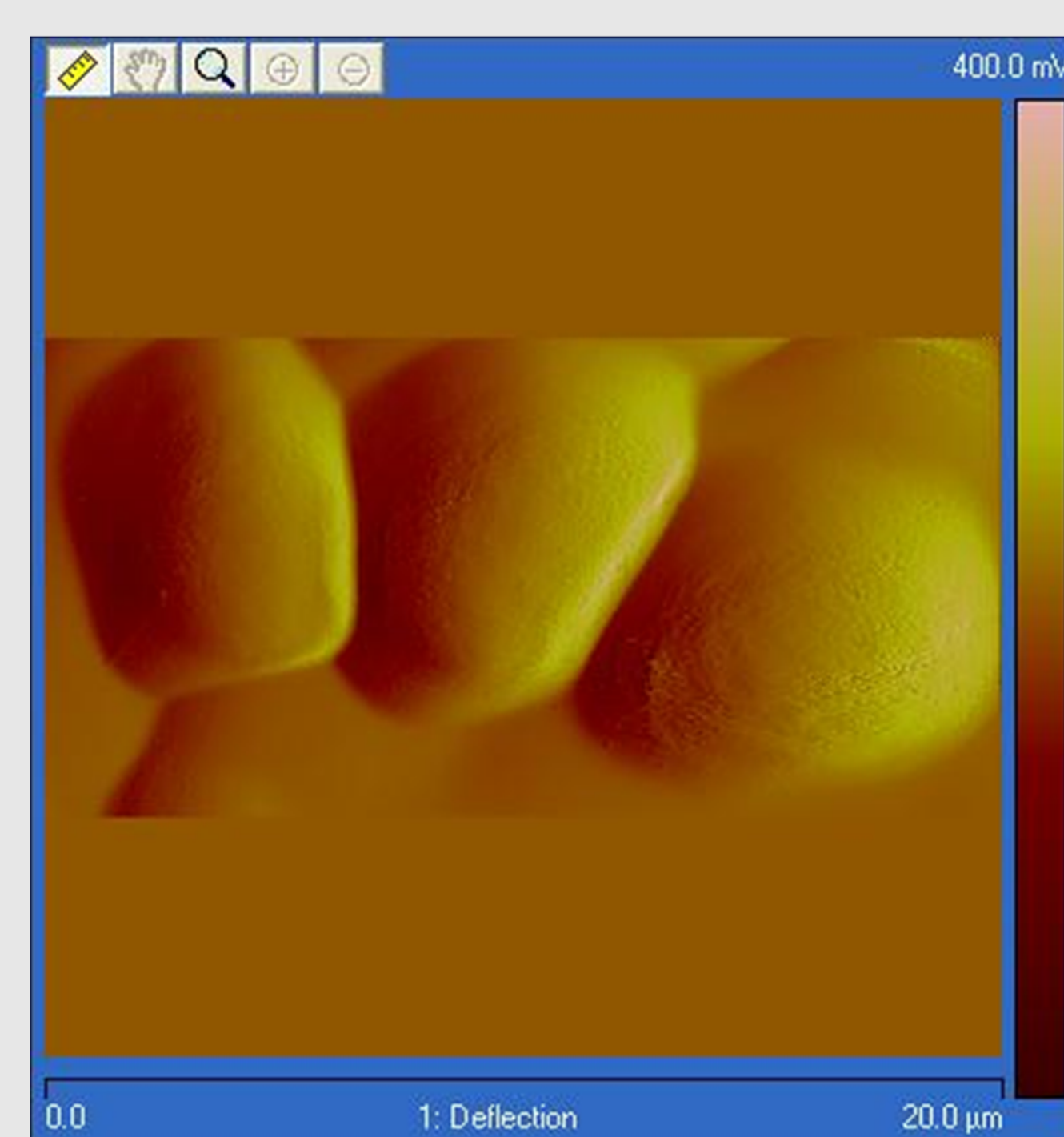


Figure 5 : Image AFM (liquide) de cyanobactéries non immobilisées



Figures 6 et 7 : Images AFM de cyanobactéries en milieu liquide



Différentes méthodes d'immobilisation ont été testées sur les cyanobactéries. Nous avons fait varier plusieurs paramètres (température, concentration d'agent permettant l'immobilisation, durée de séchage...). Nous sommes parvenus à mettre au point un protocole expérimental à base de gélatine, qui nous a permis d'immobiliser les bactéries en mode *contact* et ainsi de pouvoir les imager correctement (Figures 6 et 7).

Ainsi, cette étape limitante dans la mise au point du système SECM-AFM a été franchie. Nous pouvons désormais imager les bactéries en milieu liquide, et donc dans des conditions très proches de leurs conditions physiologiques optimales. Élément crucial de la suite de nos travaux en SECM.