

Warwick F. Vincent

est microbiologiste au Centre d'études nordiques de l'université Laval, Canada. Cet article est paru dans *Science* au mois de décembre 1999, il a été traduit par Laurent Auclair.

En 1998, le forage de glace en Antarctique a atteint un record : une carotte dépassant les 3 600 mètres. Les équipes russe, française et américaine se sont partagé les échantillons et ont mené parallèlement les analyses. (Cliché Lefebvre/EXTRAPOLE/Eurelios)



- (1) A. P. Kapitsa et al., *Nature* 381, 684 1996; J. A. Dowdeswell et M. J. Siegert, *Geol. Soc. Am. Bull.* 111, 254, 1999.
- (2) W.F. Vincent, *Microbial Ecosystems of Antarctica*, Cambridge University Press, UK, 1988; E. I. Friedmann, éd., *Antarctic Microbiology*, Wiley-Liss, New York, 1993.
- (3) J. Jouzel et al., *Science*, 286, 2 158, 1999.
- (4) J. C. Prisco et al., *Science*, 286, 2141, 1999.
- (5) D. M. Karl et al., *Science*, 286, 2 144, 1999.
- (6) S. S. Abyzov, in *Antarctic Microbiology*, E. I. Friedmann éd., Wiley-Liss, New York, 1993, pp. 265-295.
- (7) Russia, Présentation à la 25^e réunion consultative du traité sur l'Antarctique, IP73, 1999.
- (8) A. Wüest et E. Carmack, présenté à Ocean Modelling.
- (9) J. Hiscox, *Astron. Geophys.* 40, 22, 1999.
- (10) R. Stone, *Science* 286, 56, 1999; M. J. Siegert, *Am. Sci.* 87, 510, 1999.
- (11) K. K. Khurana et al., *Nature* 395, 777, 1998; R. W. Carlson et al., *Science* 283, 2 062, 1999.

Des microbes tout à fait communs peupleraient les eaux isolées sous la glace

De la vie dans le lac Vostok ?

Warwick F. Vincent

La découverte récente de bactéries dans les glaces profondes de l'Antarctique a déclenché une controverse chez les glaciologues. Selon les chercheurs américains, les découvreurs, ces micro-organismes proviennent du lac conservé sous la calotte polaire. Mais l'équipe française, qui elle aussi a analysé la composition de ces glaces, en doute.

La découverte d'une forme de vie au cœur d'un lac situé dans une vallée profonde sonne comme une nouvelle d'un autre siècle, sauf lorsque le lac en question se trouve dans l'un des endroits les plus inaccessibles de la Terre, et qu'il représente un terrain expérimental pour l'exploration d'autres planètes du système solaire. Trois communications publiées dans l'hebdomadaire *Science* apportent un nouvel éclairage sur la biologie et les origines de la glace profonde qui recouvre le lac Vostok. Elles avancent les premières indications, surprenantes, de l'existence d'écosystèmes microbiens dans les eaux du lac. Le lac Vostok est une vaste étendue d'eau douce, comparable à celle du

lac Ontario et vingt-cinq fois plus grande que celle du lac Léman, atteignant par endroits plus de 500 mètres de profondeur. Il se trouve dans la partie la plus froide et la plus reculée de l'Antarctique. C'est le plus grand des quelque 70 lacs situés à 3 ou 4 kilomètres sous la couche glaciaire de l'Antarctique de l'Est. L'eau y est maintenue liquide grâce au réchauffement géothermique, à la pression et à l'isolation par la couverture de la glace⁽¹⁾. Les microbiologistes ont longtemps spéculé sur les formes de vie microscopiques qui pouvaient exister dans ces eaux sombres et froides. Dans de nombreuses régions de l'Antarctique, les micro-organismes règnent en maîtres : ils possèdent

une remarquable capacité à survivre et même à se développer dans les conditions polaires extrêmes⁽²⁾. Pourquoi pas dans le lac Vostok ? Grâce à des mesures isotopiques, que d'autres observations étaient — taille des cristaux de glace, propriétés électriques particulières —, une équipe européenne dirigée par Jean Jouzel du laboratoire des sciences du climat et de l'environnement a d'abord montré que la partie la plus basse de la carotte de glace de Vostok, une couche de 210 mètres d'épaisseur, s'est formée à partir des eaux du lac sous-jacent⁽³⁾. Les compositions isotopiques de deutérium et d'oxygène 18 y diffèrent sensiblement de celles de la glace qui la recouvre.

Ces données suggèrent aussi que le lac Vostok, vieux de plus d'un million d'années, se serait formé sous un climat plus chaud que celui des 420 000 dernières années. En analysant les échantillons de cette couche de glace, John Prisco de l'université du Montana et ses collaborateurs ont découvert la présence de bactéries en concentration assez élevée (2 800 à 36 000 cellules/ml), beaucoup d'entre elles étant associées à des particules minérales⁽⁴⁾. D'après les empreintes génétiques, cette communauté microbienne présente une faible biodiversité. Elle se compose de groupes très proches des actuels protéobactéries* et actinomyètes*. Pour extrapoler leurs données,

ВОСТОК

Le site de forage de Vostok se situe à quelque 3 750 mètres au dessus de l'extrémité Sud du lac sous-glaciaire. D'après les compositions isotopiques et la taille des cristaux de glace, la portion la plus profonde de la carotte s'est formée à partir de l'eau du lac.

(Cliché EXtraPôle/Eurelios)

mesurées dans la glace, aux eaux du lac, les chercheurs se sont fondés sur une étude réalisée dans des zones liquides et gelées de lacs situés dans les vallées sèches près de Mc Murdo en Antarctique. Selon leurs estimations, le lac Vostok contient des nutriments inorganiques, du carbone organique dissous et des bactéries : tous les ingrédients nécessaires à un écosystème microbien actif.

Une autre équipe de chercheurs nord-américains confirme la présence de bactéries dans cette couche de glace, mais en quantité bien inférieure à celles mesurées par le groupe de John Prisco : en passant leurs échantillons au crible de différentes techniques de coloration et de traitements biochimiques David Karl de l'université de Hawaï et ses collègues ont compté 200 à 500 cellules/ml⁽⁵⁾. Ils ont de plus réalisé des mesures d'activité respiratoire dont les résultats sont encore plus surprenants : une fois fondus, les échantillons de glace contiennent des cellules viables qui respirent activement.

Trois types de questions doivent être soulevées quant à l'interprétation de ces nouvelles données. Premièrement, les analyses biochimiques et bactériennes reflètent-elles effectivement le contenu de la glace ou les échantillons ont-ils été contaminés lors du processus

d'extraction? Les auteurs des deux études microbiologiques affirment avoir travaillé avec le maximum de précautions pour éviter toute contamination. Deuxième question, les organismes proviennent-ils de la partie liquide des eaux du lac Vostok ou ont-ils été transportés dans la glace par un autre mécanisme ?

La présence de kérosène dans le puits de forage pose le problème d'une éventuelle contamination biologique des échantillons

Toute une variété de micro-organismes a déjà été isolée dans la glace au-dessus du lac Vostok⁽⁶⁾. Les analyses d'ADN de l'équipe de John Prisco ayant montré que la microflore contenue dans la couche la plus basse s'apparente à des souches vivant à des latitudes tempérées, on pourrait penser que ces bactéries proviennent des niveaux supérieurs. Cependant, d'après les travaux de l'équipe de Jean Jouzel, la glace analysée par les équipes de John Prisco et de David Karl est bien issue du lac, et son contenu biologique et chimique doit refléter celui des eaux sous-jacentes. Enfin, si l'on admet que le lac contient des bactéries viables et du carbone organique, ces cellules restent-elles actives dans les conditions très hos-

tiles de froid (-5 °C), de forte pression (550 atm), de faibles apports en nutriments et de possible anoxie qui caractérisent ce milieu? Des réponses définitives à toutes ces questions demanderaient des prélèvements directs dans les eaux du lac Vostok. Mais cela soulève d'autres problèmes.

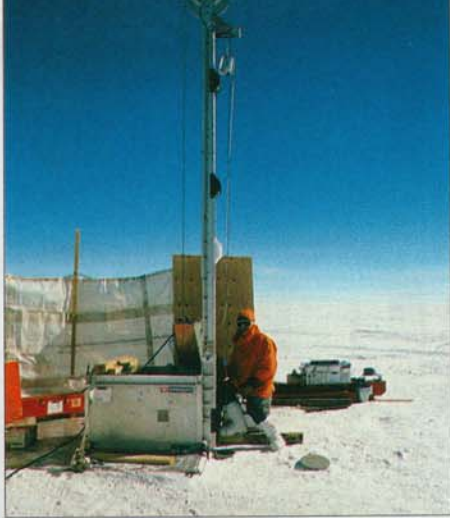
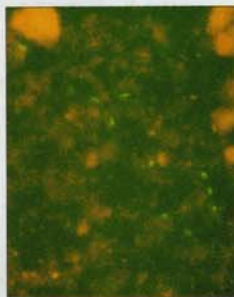
Lors de la 25^e réunion consultative du traité sur l'Antarctique, en mai 1999, la Russie a présenté un rapport environnemental complet sur les opérations de Vostok et a souligné de nombreuses sources d'inquiétude⁽⁷⁾. Le forage – qui n'a pas encore atteint le niveau liquide du lac – est maintenu ouvert par injection d'un fluide de forage, un mélange de kérosène et de substitut de fréons. Quelque 60 tonnes de ce liquide sont actuellement dans le puits, et près d'une tonne se trouve au niveau des glaces du lac. Ce rapport indique que la quantité de liquide de forage est trop importante pour être retirée, recyclée, puis stockée au niveau du sol ou transportée hors du site. Cependant, il faut impérativement éviter qu'il entre dans les eaux du lac Vostok, où il polluerait l'une des dernières réserves d'eau primitive de la planète.

Les estimations montrent que les éléments qui seraient libérés dans les eaux du lac Vostok circuleraient jusqu'au fond du lac en quelques

jours, et contamineraient la totalité du bassin en quelques dizaines d'années⁽⁸⁾. La contamination biologique et chimique est un problème majeur qui sera le point principal des futures discussions internationales au sujet des prélèvements d'eau et de sédiments dans le lac Vostok. C'est aussi l'une des préoccupations des exobiologistes concernant l'exploration et l'échantillonnage des océans gisant sous les glaces d'autres planètes.

La découverte d'étendues d'eau et de glace sur les lunes de Jupiter Europe et Callisto a suscité de nombreuses questions quant à leur géochimie et à l'existence potentielle d'une forme de vie⁽⁹⁾. Le lac Vostok est donc vu comme un terrain d'expérimentation intéressant pour les techniques d'échantillonnage dans ces milieux encore plus extrêmes⁽¹⁰⁾. Cependant, malgré certaines similitudes, les différences sont importantes, au niveau de la composition chimique, par exemple⁽¹¹⁾. L'analogie biologique est donc peu probable. Indépendamment de ces différences, les explorations futures demanderont des développements techniques et des efforts spécifiques pour minimiser l'empreinte humaine sur les échantillons que ce soit dans les eaux et glaces pures de l'Antarctique ou ailleurs dans le système solaire. ➔

Les seules bactéries détectées par l'équipe française, les petits bâtonnets verts sur la photo, ont été observées dans un échantillon trop petit pour être correctement décontaminé. Jusqu'à présent, toutes les analyses, réalisées suivant le protocole exigé, concluent à l'absence de micro-organismes dans ces glaces. (Cliché TDR)



Les opérations de carottage ont été arrêtées en janvier 1998 pour préserver les eaux du lac Vostok d'une pollution au kérosène. Une couche de 120 mètres de glace demeure donc intacte et isole le lac du fond des puits.

(Cliché Lefebvre/EXtraPôle/Eurelios)

*** La microscopie à épifluorescence** permet de détecter des cellules dont l'ADN a été coloré par un colorant fluorescent comme l'acridine orange (AO).

*** Les protéobactéries** rassemblent plus de 200 genres bactériens aux caractéristiques physiologiques très variées, d'où la référence au dieu grec Protée. La célèbre *Escherichia coli* en fait partie.

*** Les actinomycètes** sont des bactéries aérobies qui forment des filaments ramifiés et des spores asexuées.

*** ppb** signifie partie par milliard.

*** La réaction de polymérisation en chaîne** (en anglais *polymerase chain reaction*, **PCR**), est un procédé qui permet de copier en grande quantité une séquence quelconque d'ADN en un temps très bref.

Vostok, les raisons de la suspicion

Jean Robert Petit, directeur de recherche au CNRS au laboratoire de glaciologie et de géophysique de l'environnement à Grenoble, a été le coordinateur du projet de forage des glaces de Vostok, (une collaboration franco-russo-américaine). Il est l'un des auteurs de l'article publié par l'équipe européenne dans *Science*, ayant montré que la glace profonde provient de l'eau du lac, et anime l'équipe de scientifiques français chargée des analyses des carottes de glace.

Pour Warwick Vincent, la découverte des bactéries du lac Vostok soulève plusieurs questions, la première étant celle d'une contamination éventuelle des échantillons. Partagez-vous ses réserves ?



(Cliché Munos-Yagué/Eurelios)

Entièrement. Les conclusions des deux équipes américano-canadiennes ayant analysé chacune un seul échantillon de la glace du lac Vostok ont surpris plus d'un chercheur. Côté français, nous avons en effet étudié une dizaine de niveaux de cette glace sans pouvoir conclure à la présence de bactéries, un résultat exactement à l'opposé de celui de nos confrères.

Mes collègues biologistes, Michel Blot et Denis Faure du laboratoire de plasticité et expression des génomes microbiens à l'université de Grenoble ainsi qu'Anne-Monique Gounot et Agnès Richaume du laboratoire d'écologie microbienne de l'université de Lyon, n'ont pas observé de microbes en microscopie à épifluorescence*. Les essais de mises en culture ont été sans succès. Quant aux tentatives d'amplification de l'ADN par la méthode PCR*, aucune n'a été significative : les échantillons et les témoins ont donné des signaux identiques. Seul un petit échantillon d'une étude préliminaire contenait des bâtonnets semblables à ceux observés par nos confrères. Mais nous l'avons écarté, sa petite taille n'ayant pas permis toutes les opérations de décontamination (raclages au scalpel, lavages à l'eau pure et stérile).

Vous penchez donc pour l'hypothèse de la contamination liée au kérosène utilisé dans le forage ?

Le kérosène utilisé à Vostok adhère particulièrement aux carottes. L'étape de décontamination, qui doit se faire en conditions stériles et sans poussières, est donc délicate mais essentielle dans cette affaire⁽¹⁾. Suivant ce protocole, Steffen Greulich et Dietmar Wagenbach de l'université de Heidelberg ont mesuré les concentrations de carbone dans huit niveaux de glace dont 3 sont adjacents à ceux étudiés par les équipes de D. Karl et J. Prisco. Ils y détectent des teneurs de 6 +/- 3 ppb*, très inférieures aux 80 et 510 ppb de nos confrères américains ! A mon avis, ces valeurs ne reflètent en rien un éventuel stock de carbone disponible dans le lac, mais plutôt un reste de kérosène.

D'autres arguments vont d'ailleurs dans le sens d'une contamination. Une série de 20 échantillons a été analysée au laboratoire de glaciologie par Martine de Angelis : les taux de nitrites et d'ammonium, composés très sensibles aux contaminations, sont huit fois plus faibles que ceux mesurés dans les échantillons américains. Enfin, un constat troublant, l'équipe de J. Prisco, qui a retiré

le moins de matière lors de la décontamination, observe aussi dix fois plus de microbes et six fois plus de carbone !

La nature très commune des bactéries, et surprenante pour un tel milieu, n'est-elle pas un argument supplémentaire ?

Les bactéries identifiées et supposées représentatives du lac ne sont ni spécifiques de l'Antarctique ni adaptées au froid. Curieusement, cela n'étonne pas les auteurs de l'article. Elles appartiennent à des genres — acidovorax, actinomyces, afipia, comamonas — que l'on trouve fréquemment soit dans les sols et les eaux, soit chez l'homme. Certaines d'entre elles, les comamonas, sont capables de dégrader les hydrocarbures. Il ne serait pas surprenant de les observer dans le kérosène du forage.

Mais revenons sur les tests par PCR. Les chercheurs américains ont obtenu un signal positif pour les échantillons d'« ADN extrait de la glace » mais aussi pour les témoins, de l'eau ultrapure stérile. Les auteurs présentent ces bactéries, du genre aquabacterium, comme un artefact expérimental, probablement lié à l'eau utilisée. Ils l'ont donc écarté.

Cependant, du point de vue écologique, il n'y a pas de raison de distinguer les genres bactériens uniquement détectés dans la glace du genre aquabacterium. Au contraire, ils présentent tous le trait commun de pouvoir se loger dans une conduite d'eau pas trop propre. On peut très bien les trouver simplement en se lavant les mains ou les dents !

N'y a-t-il donc pas de vie microbienne dans la glace très pure et les eaux du lac Vostok ?

Les bactéries identifiées ne proviennent sans doute pas du lac. Pour autant, je ne rejette pas la possibilité d'y découvrir des traces de vie ou des restes d'activité biologique. Surtout si ce dernier existait avant que l'Antarctique ne le recouvre d'une calotte de glace, il y a 20 millions d'années.

Existe-t-il un risque de contamination des eaux du lac ?

Non, et il faut être clair sur ce point. Les opérations de forage ont été volontairement arrêtées en janvier 1998, à 120 mètres de la surface du lac (une commission d'étude préconisait d'en laisser au moins 25 mètres). La glace étant parfaitement imperméable aux fluides, le lac est préservé. De plus, il n'est pas du tout impossible, comme le dit W. Vincent, de retirer les 60 tonnes de fluide ; l'opération est même assez simple.

Propos recueillis par Hélène Le Meur