

Impact des biofilms dans le cycle des polluants, méthodologie et premiers résultats

Gélabert A.^{1,*}, Petit F.², Berthe T.², Labadie P.³, Parlanti E.³, Huguet A.⁴,
Guigon E.⁴, Morin G.⁵, Cordier L.¹, Colin Y.²

¹ Université de Paris, institut de Physique du Globe de Paris, CNRS, F-75005 Paris, France

² Normandie Université UMR 6143 M2C, CNRS

³ CNRS, Université de Bordeaux, UMR EPOC 5805 CNRS, Talence

⁴ Milieux environnementaux, transferts et interactions dans les hydrosystèmes et les sols (METIS), UMR 7619, Sorbonne Université – CNRS – EPHE, 4 place Jussieu, 75252 Paris Cedex 05

⁵ Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie (IMPMC) UMR 7590, CNRS-Sorbonne Université – MNHN – IRD, 4 place Jussieu, 75252 Paris Cedex 05

* Adresse mail de la personne à contacter : gelabert@ipgp.fr

Résumé

L'objectif de cette action est d'estimer la contribution des biofilms microbiens aux flux de polluants métalliques et de micropolluants organiques en Seine. Cette action repose sur un volet physico-chimique et un volet microbiologique, et est basée à la fois sur une stratégie de prélèvements d'échantillons en Seine et sur la réalisation d'expériences en conditions contrôlées au laboratoire.

Devant l'impossibilité de réaliser les prélèvements prévus en Seine en 2020 suite à la crise sanitaire, ce rapport a pour objet de présenter l'approche utilisée pour cette action. La première partie, basée sur une étude bibliographique, décrit la réactivité des biofilms microbiens, notamment au niveau des microenvironnements présents dans l'épaisseur de ces structures. Ensuite, un rappel des principaux résultats obtenus lors de travaux antérieurs du PIREN-Seine concernant les biofilms microbiens est effectué. Cette partie montre que le biofilm est capable d'accumuler métaux et micropolluants organiques, et que ceux-ci induisent en retour une réponse des communautés microbiennes (gènes de résistance). Enfin, les objectifs de cette action sont présentés, ainsi que la stratégie de prélèvements et d'analyses qui sera utilisée.

Points clefs

- ✓ *Les microenvironnements créés par les biofilms microbiens, présents dans leur épaisseur, sont des zones de très forte réactivité physico-chimique.*
- ✓ *Des travaux préliminaires en Seine indiquent des capacités d'accumulation de métaux et micropolluants organiques par les biofilms.*
- ✓ *Il est nécessaire de quantifier précisément la contribution des biofilms dans les flux de polluants métalliques ou organiques en Seine*

Abstract

The objective of this action is to estimate the contribution of microbial biofilms to the flow of metallic pollutants and organic micropollutants in the Seine river. This action is based on a physico-chemical approach as well as a microbiology approach, and involves a sampling strategy in the Seine river and the realization of laboratory experiments under controlled conditions.

Given the impossibility of carrying out the planned sampling campaign in the Seine river in 2020, due to the sanitary crisis, this report aims to present the approach used for this action. The first part, based on a bibliographical study, describes the reactivity of microbial biofilms, particularly at the level of microenvironments present in the thickness of these structures. Then, a reminder of the main results obtained during previous work of the PIREN-Seine concerning microbial biofilms is given. This part shows that biofilms are capable of accumulating metals and organic micropollutants, which in turn induces a response from the microbial communities (resistance genes). Finally, the objectives of this action are presented, as well as the sampling and analysis strategy that will be used.

Key points

- ✓ Microenvironments created by microbial biofilms in their thickness are areas of very high physico-chemical reactivity.
- ✓ Preliminary work in the Seine indicates the capacity for accumulation of metals and organic micropollutants by biofilms.
- ✓ It is necessary to precisely quantify the contribution of biofilms for the flux of metallic and organic pollutants in the Seine river.

Introduction

La biomasse totale des procaryotes (bactéries et archées) est estimée à 77 Gt C (Bar-On et al., 2018) soit environ 15% de la biomasse totale sur Terre. Ces microorganismes sont omniprésents dans tous les environnements, des systèmes aquatiques de subsurface jusqu'à plusieurs kilomètres de profondeur dans la lithosphère, et sont donc à même de jouer un rôle important pour le cycle des éléments chimiques.

Dans la très grande majorité des milieux naturels, les microorganismes (bactéries et archées par exemple) ont tendance à s'organiser sous forme de biofilms. Ces structures hautement hydratées sont constituées de cellules incluses dans une matrice complexe composée d'exopolymères auto-sécrétés, communément appelés EPS (Costerton et al., 1995 ; Flemming et Wuertz, 2019 ; Ménez et al., 2012). Ce mode d'organisation particulier favorise un transport limité des éléments chimiques au sein même de ces structures et permet la création de microenvironnements de caractéristiques physico-chimiques très particulières (Stewart, 2003). Ainsi, cette structuration particulière en association avec la forte densité des groupes fonctionnels et l'activité métabolique des cellules permet aux biofilms microbiens de présenter une réactivité physico-chimique très élevée.

En conséquence, les biofilms constituent un compartiment réactif majeur des milieux naturels comme les sols et les sédiments, et sont ainsi capables d'impacter le cycle des polluants, métalliques ou organiques, dans des environnements comme le bassin de la Seine.

1. Réactivité des biofilms microbiens

1.1. Existence de microenvironnements dans les biofilms

Les parois des cellules microbiennes présentent des surfaces spécifiques très élevées, de l'ordre de plusieurs centaines de m²/g, ainsi qu'une forte densité de sites réactifs (Borrock et al., 2005). Chez les bactéries, trois types de sites fonctionnels principaux ont été identifiés. Il s'agit des groupes carboxyles (pKa compris entre 3 et 4,5) et phosphoryles (pKa compris entre 7 et 8), qui confèrent une charge négative à la surface des bactéries ainsi que des capacités de complexation des métaux, et des groupes aminés chargés positivement à pH neutre (pKa compris entre 8 et 11). Par ailleurs, plusieurs études récentes ont mis en évidence la présence de groupements thiols en plus faibles concentrations, jouant eux aussi un rôle lors de la complexation de métaux de transition (Yu et al., 2014). De plus, la matrice d'EPS fournit des sites fonctionnels supplémentaires, principalement chargés négativement (Tourney et al., 2014). Du fait de l'affinité que présentent ces groupes fonctionnels pour les métaux et/ou certains types de matière organique, les biofilms peuvent ainsi agir comme des sorbants efficaces pour de nombreux micropolluants (Ha et al., 2010 ; Wang et al., 2016a ; Wang et al., 2016b).

L'organisation tridimensionnelle des biofilms est très complexe, présentant des propriétés de gel dans lequel la diffusion des éléments chimiques est limitée par les faibles porosité et perméabilité du système (Warren et al., 2001). Par conséquent, en raison de leur activité métabolique, les micro-organismes au sein de ces structures créent et maintiennent des micro-environnements aux propriétés physico-chimiques très différentes de la solution environnante. Ils imposent aussi dans l'épaisseur de ces structures des gradients de concentration pour les composés organiques ou inorganiques tels que les phosphates (Couasnon et al., 2019), certaines enzymes ou des EPS (Flemming et Wingender, 2010), ainsi que des gradients physico-chimiques (pH, Eh...) (Hidalgo et al., 2009). Des variations de pH de plusieurs ordres de grandeur ont ainsi été rapportées sur des échelles spatiales relativement limitées (quelques microns) et s'expliquent par la production rapide de métabolites combinée à un transfert limité de ces molécules à travers la matrice d'EPS, entraînant une accumulation locale de sous-produits acides (Fulaz et al., 2019). Certains auteurs qualifient même le milieu extracellulaire au sein des biofilms de « système digestif externe » dans lequel les enzymes extracellulaires produites par les microorganismes s'accumulent et métabolisent des molécules organiques et des biopolymères, ou participent à la dissolution de minéraux (Flemming et Wingender, 2010).

Ces fortes modifications physico-chimiques au niveau des micro-environnements des biofilms sont en partie à l'origine de la forte réactivité de ces structures. Ils constituent ainsi un paramètre clé pour le cycle des polluants organiques et métalliques, en modifiant la biodisponibilité ou la solubilité de ces derniers. Par exemple, certains métaux traces sont très sensibles aux gradients d'oxydo-réduction, modifiant à la fois leur spéciation et leur solubilité (le fer, le manganèse ou le chrome par exemple), ou peuvent se retrouver en forte sursaturation dans ces micro-environnements, ce qui peut entraîner la formation de phases minérales secondaires néoformées. De la même manière, des polluants organiques sont susceptibles d'être eux aussi oxydés ou dégradés au sein de ces micro-environnements. En conséquence, les micro-environnements, générés dans l'épaisseur des biofilms microbiens, sont susceptibles d'affecter le cycle des polluants métalliques et organiques.

1.2. Biofilms : accumulateurs environnementaux

Du fait de leur structure particulière proche des gels, les biofilms sont souvent considérés comme des filtres, ou même des "éponges", pour toute une série de composants inorganiques, organiques et biologiques (Ikuma et al., 2015). Des travaux sur les métaux traces ont montré qu'ils jouaient le rôle de compartiments d'accumulation dans l'environnement (Templeton et al., 2003, Wang et al., 2016a; Wang et al., 2016b). De même, une grande variété de nanoparticules métalliques sont piégées en quantités importantes par les biofilms (Battin et al., 2009 ; Burns et al., 2013 ; Avellan et al., 2018, Desmau et al., 2018), et des études impliquant des mésocosmes montrent que les biofilms microbiens constituent le principal réservoir d'accumulation pour des nanoparticules d'or (Ferry et al., 2009).

2. Évidence d'une activité des biofilms microbiens en Seine ?

Des travaux préliminaires effectués sur les biofilms microbiens lors de la phase 6 du PIREN-Seine soulignent leurs capacités de piégeage des polluants organiques (HAP, PCB, composés perfluoroalkylés, antibiotiques...), avec des implications en termes de transfert vers le réseau trophique. De manière complémentaire, du point de vue des populations microbiennes, des travaux (PIREN-Seine phase VII) se sont attachés à étudier le résistome des communautés microbiennes des biofilms, comme indicateur de vulnérabilité ou de résilience du milieu aux contaminants chimiques ou microbiologiques.

Un des objectifs de la phase 6 (rapport de synthèse phase 6) a été d'étudier le processus de bioaccumulation de polluants organiques persistants dans le biofilm périphytique. Des biofilms périphytiques ont été prélevés lors de campagnes sur l'axe Seine (Marnay, Bougival, Triel), après colonisation de supports artificiels (membranes en polyéthylène basse densité) immergés durant quatre semaines. Ces expériences mettent en évidence des niveaux de contamination du biofilm par les composés perfluoroalkylés (PFAS) augmentant de l'amont à l'aval. De plus, il a été montré une accumulation dans le périphyton, jusqu'à plus d'un ordre de grandeur supérieure aux sédiments, qui résulte probablement de l'adsorption des PFAS sur les microorganismes et la matrice d'EPS associée, ainsi que leur accumulation intracellulaire (Fechner, 2012). Il est ainsi intéressant de voir que ces niveaux d'accumulation dans les biofilms sont relativement élevés par rapport au milieu environnant. Des tests similaires ont été réalisés pour déterminer les niveaux d'accumulation de métaux traces (Cd, Cr, Co, Cu, Mn, Ni, Pb et Zn) au niveau de biofilms périphytiques. Ils reflètent l'augmentation de l'exposition multi-métallique le long du gradient d'urbanisation.

Dans le cas des micropolluants organochlorés (polychlorobiphényles (PCB) et pesticides organochlorés (OCP)) et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), un gradient de contamination est observé de l'amont vers l'aval, avec les niveaux les plus faibles à Marnay, à l'amont du bassin (Fig.1).

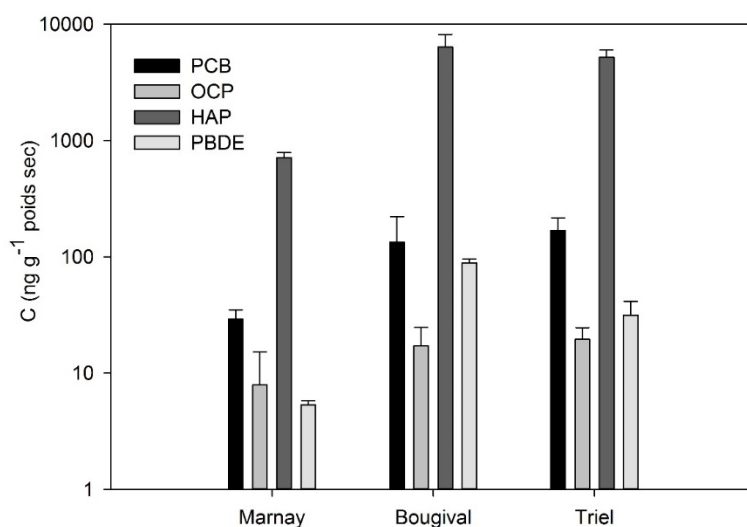


Figure 1. Niveaux de POPs hydrophobes dans le biofilm récupéré en Seine (total par famille). Les valeurs représentées sont les moyennes \pm écart-type ($N = 4$) (synthèse PIREN-Seine Phase VI)

Par ailleurs, l'étude du résistome des biofilms et des sédiments a été utilisée pour évaluer l'adaptation des communautés bactériennes à la contamination chimique ou microbiologique. Il a ainsi pu être montré, durant la phase VII (Berthe et al., 2017), un enrichissement du patrimoine génétique des bactéries en gènes de résistances aux métaux traces (*cusA* et *czcA*) dans les communautés microbiennes présentes dans les biofilms ou les sédiments en fonction du gradient d'anthropisation le long du transect amont-aval de la Seine (transect Marnay-Bougival-Triel). Ce résultat témoigne d'une adaptation de ces communautés bactériennes à une exposition chronique aux métaux de transition (Zn, Cu...). La présence permanente de supports génétiques de résistance aux antibiotiques (intégrons cliniques de classe 1), dont l'abondance augmente avec le degré d'anthropisation du bassin versant, a également été observée. Ces résultats montrent que les biofilms dans les

rivières fortement urbanisées, comme la Seine, constituent des microenvironnements où le résistome des communautés microbiennes est enrichi en supports génétiques conférant la résistance aux antibiotiques (intégrons cliniques).

3. Objectifs

Ces études mettent en avant le rôle important des biofilms microbiens dans le cycle des éléments chimiques. Cependant, les mécanismes associés, la quantification précise et la détermination de l'impact réel des biofilms sur le devenir des micropolluants restent encore très mal renseignés dans les milieux naturels comme le bassin versant de la Seine.

L'objectif principal de cette action est ainsi d'estimer la contribution des biofilms dans les flux de polluants métalliques ou organiques en Seine. Cette action repose sur deux volets principaux, un volet physico-chimique et un volet microbiologique.

Le volet physico-chimique a pour objectif d'estimer les flux de polluants mobilisés au niveau des biofilms en quantifiant la capacité de piégeage de biofilms par rapport à la colonne d'eau pour les métaux et contaminants organiques sélectionnés (fluoroalkylés, pesticides, antibiotiques), mais aussi pour la matière organique. Il s'agira aussi de déterminer les changements de spéciation de ces polluants, de même que les taux de dégradation de substances organiques, à même d'impacter leur transport et leur biodisponibilité, pour estimer comment le cycle de ces composés naturels et anthropiques peut être affecté par cette interface réactive (biofilm/solution).

Le volet microbiologique s'intéresse aux différents types d'interactions de la composante microbienne de ces biofilms avec les contaminants chimiques, métalliques ou organiques (pesticides). Il a été proposé, en complément à une observation en microscopie – EDX qui visualisera les phénomènes de biosorption, de développer une approche de métagénomique, couplée à une approche ciblée de détection moléculaire de gènes d'intérêt (gènes de résistance aux métaux traces). Les objectifs sont : 1) identifier des taxons microbiens (bactéries et archées) impliqués dans les changements de spéciation du métal, les phénomènes de biosorption ou de bioaccumulation, ou de dégradation de pesticides ; 2) rechercher si des mécanismes de résistance bactérienne aux métaux traces sont impliqués dans la zone réactive des biofilms.

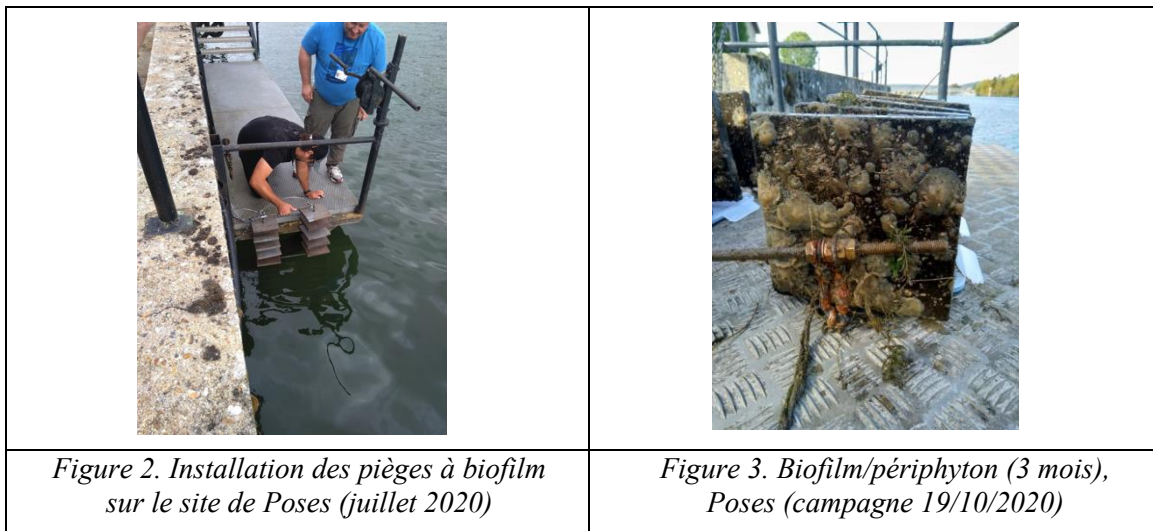
4. Méthodologie et stratégie de prélèvement en Seine

Cette action repose sur une approche *in situ* (déploiement de pièges à biofilms sur l'axe Seine, et dans la rivière de l'Orge (pour le volet microbiologique) les 2 premières années), et des expérimentations en microcosmes (2 dernières années).

4.1. Conception et déploiement des pièges à biofilms

La crise sanitaire n'a pas permis d'instrumenter la totalité des sites. Seul le site de Poses a ainsi pu être instrumenté en juillet 2020 (Figure 2). Une première campagne exploratoire a été menée la semaine du 19 octobre 2020 afin d'estimer la structure (approche MEB-EDX) et la composition biologique du biofilm (Figure 3).

L'instrumentation des sites sera achevée fin novembre 2020 : au moins 3 systèmes de biofilms seront positionnés sur chacun des sites. Les systèmes conçus à l'UMR M2C sont actuellement en cours de réalisation. Ces pièges à biofilms seront déployés sur la rivière de l'Orge (sites de Gué d'Orge, Saint-Germain-lès-Arpajon et Viry-Châtillon), et le transect Seine, avec pour la partie amont Marnay-Bougival-Triel-Poses, auxquels s'ajouteront, sur la partie estuaire-aval, une instrumentation similaire des sites de Rouen et Tancarville (projet CPER RIN Litote). Ces systèmes seront déployés durant 1 an, et l'échantillonnage sera réalisé à une fréquence trimestrielle/saisonnière.



4.2. Capacités de piégeage et changements de spéciation en Seine

Les concentrations en métaux, polluants organiques (fluoroalkylés, pesticides, antibiotiques) et matière organique dissoute et particulaire seront mesurées dans le biofilm et dans la colonne d'eau. Une mise au point sur des protocoles d'extraction sera nécessaire pour faire la distinction entre éléments/molécules internalisés dans les cellules, adsorbés sur les parois cellulaires, et présents dans le biofilm en milieu extracellulaire. Différents protocoles sont ainsi envisagés. Pour accéder à la fraction extracellulaire du biofilm (associée à la structure complexe d'EPS), il est envisagé de détruire l'organisation des biofilms en exposant ces derniers à un vortex ou à une ultrasonication de faible intensité. De plus, une extraction sélective en utilisant un milieu soit faiblement acide, comme de l'acide acétique, soit fortement complexant des métaux, comme l'EDTA, permettra d'accéder à la fraction adsorbée à la surface des cellules. Enfin, une digestion totale du biofilm (mélange HNO_3 et H_2O_2) ou une lyse cellulaire (presse Française par exemple) sont envisagées pour accéder, par différence, aux éléments et molécules internalisés dans le biofilm. Ainsi, des coefficients de partage seront définis entre biofilm et colonne d'eau, permettant d'accéder aux capacités d'accumulation des biofilms, et de quantifier leur impact sur les flux de micropolluants aux 4 sites identifiés.

Pour les métaux, il s'agira ensuite de déterminer quelles sont les phases minérales néoformées dans les biofilms prélevés en Seine, à l'aide d'approches de microscopie électronique et spectroscopiques (RAMAN, XPS, XAS). Une recherche des modifications d'états d'oxydo-réduction pour les métaux sera également effectuée suivant les mêmes approches.

Par ailleurs, la recherche des molécules issues de la dégradation des polluants organiques sera effectuée, ainsi qu'une identification de la qualité de la MO (fluorescence 3D pour la phase dissoute et lipides pour la phase particulaire) qui sera comparée à la qualité de MO de la colonne d'eau afin d'en déterminer une éventuelle dégradation.

4.3. Optimisation des conditions d'amplification moléculaire des gènes de résistances aux métaux traces

Les approches de métagénomique seront mises en place pour identifier les populations de microorganismes pour les quatre sites et les 3 campagnes. Cela permettra de mettre en relation la diversité et la structure des communautés microbiennes et les concentrations en contaminants. Dans le cadre de son master 2, Claire Da Costa a optimisé les conditions d'amplification moléculaires (PCR point final) de séquences spécifiques de gènes bactériens de résistance aux métaux traces (*silA*, *czcA*, *merA*, *arsB*, *cusA*, *copA*) sur la base d'une recherche bibliographique. En revanche, la détection des gènes de résistance au plomb (*pbrA*, *pbrT*) a fait l'objet d'une mise au point méthodologique spécifique au laboratoire (Tableau 1). L'objectif de ces travaux est d'effectuer une quantification moléculaire par PCR quantitative (qPCR).

Tableau 1. Gènes bactériens de résistance aux métaux traces, et leurs conditions d'amplification moléculaire (Da Costa C, 2020, Master 2)

Gène cible	Métaux traces	Mécanisme	Amorce	Taille de l'amplicon (pb)	Référence
<i>pbrA</i>	Pb ²⁺	ATPase de type P	pbrA F1	188	Laboratoire (M2C) (non publiées)
<i>pbrA</i>	Pb ²⁺	ATPase de type P	pbrA F1	188	Laboratoire (M2C) (non publiées)
<i>silA</i>	Ag ⁺	Pompe HME-RND	silA F silA R	150	Woods et al (2009)
<i>pbrA</i>	Pb ²⁺	ATPase de type P	pbrA F1 pbrA R1	188	Laboratoire (M2C) (non publiées)
<i>pbrT</i>	Pb ²⁺	Protéine d'import	pbrT F pbrT R	448	Roosa et al (2014) (42)
<i>czcA</i>	Co ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺	Pompe HME-RND	czcA_Gil_For czcA_Gil_Rev	232	Roosa et al (2014)
<i>merA</i> (β - <i>y</i> - <i>Proteobacteria</i>)	Hg ²⁺	Changement de valence (réductase mercurique)	A7s-n.F A5-n.R	288	Vetriani et al (2005)
<i>merA</i> (<i>Actinobacteria</i>)	Hg ²⁺	Changement de valence (réductase mercurique)	Act-fw Act-Rw	391-397	Oregaard et Sorensen (2007)
<i>merA</i> (<i>Firmicutes</i>)	Hg ²⁺	Changement de valence (réductase mercurique)	Fir-fw Fir-Rw	455	Oregaard et Sorensen (2007)
<i>arsB</i>	As ²⁺	ATPase de type P	arsB F arsB R	226	Roosa et al (2014)
<i>cusA</i>	Cu ²⁺	Pompe HME-RND	cusF cusR	410	Besaury et al (2013)
<i>copA</i>	Cu ²⁺	ATPase de type P	copA F copA R	193	Roosa et al (2014)

4.4. Incubations en conditions contrôlées au laboratoire

Les incubations en mésocosme, années 3 et 4, consisteront à exposer, en conditions contrôlées, des biofilms à des polluants organiques, à de la matière organique et à des métaux (comme Mn et Cr dont les cycles sont fortement liés à l'activité oxydo-réductrice des microorganismes). Ces biofilms seront collectés en Seine, afin de conserver des consortia microbiens représentatifs des milieux naturels, avec certainement une mise au point importante relative à la survie de certains microorganismes en laboratoire.

Un suivi du devenir de ces polluants, en particulier l'évolution de l'état d'oxydation des métaux (par approches spectroscopiques), la recherche des produits de dégradation pour les micropolluants organiques, et la détermination de changements dans la qualité de MO dissoute et particulaire (dégradation, accumulation) sera réalisé régulièrement afin de mieux quantifier l'impact des biofilms microbiens sur les flux de polluants. Cette approche permettra de mieux définir les cycles de micropolluants, métalliques ou organiques, et les flux d'entrée et sortie des biofilms associés. En conséquence, elle permettra d'extrapoler ces connaissances en milieux connus et contrôlés aux données acquises lors des deux premières années en Seine. Simultanément, les approches de métagénomique présentées précédemment seront également utilisées pour définir l'impact de ces polluants sur la structuration et le fonctionnement des communautés microbiennes.

5. Conclusion

Cette action, combinant données collectées sur le terrain (années 1 et 2) et mises en culture au laboratoire (années 3 et 4), permettra ainsi de mieux contraindre les flux de micropolluants organiques, de métaux, et de matière organique dans le bassin de la Seine. Ceci touchera particulièrement les aspects quantitatifs et mécanistiques. En complément, l'utilisation d'approches de métagénomique permettra en retour d'estimer comment les communautés microbiennes se structurent une fois exposées à ces micropolluants organiques et métalliques.

Bibliographie

- Avellan, A., Simonin, M., McGivney, E., Bossa, N., Spielman-Sun, E., Rocca, J. D., et al. (2018). Gold nanoparticle biodissolution by a freshwater macrophyte and its associated microbiome. *Nat. Nanotechnol.* 13, 1072–1077. doi: 10.1038/s41565-018-0231-y
- Bar-On, Y. M., Phillips, R., and Milo, R. (2018). The biomass distribution on Earth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 115, 6506–6511. doi: 10.1073/pnas.1711842115
- Battin, T. J., Kammer, F. V. D., Weilhartner, A., Ottofuelling, S., and Hofmann, T. (2009). Nanostructured TiO₂: transport behavior and effects on aquatic microbial communities under environmental conditions. *Environ. Sci. Technol.* 43, 8098–8104. doi: 10.1021/es9017046
- Berthe T., Fechner L., Barraud O., Dagot C., Ploy M.C., Michaut M., Cotelle F., Gaschet M., Petit F. (2017) Evaluation du résistome des communautés microbiennes des biofilms et sédiments comme indicateurs de vulnérabilité et/ou de résilience du milieu aux contaminants. Rapport PIREN Seine phase 7 - 2017
- Burns, J. M., Pennington, P. L., Sisco, P. N., Frey, R., Kashiwada, S., Fulton, M. H., et al. (2013). Surface charge controls the fate of Au nanorods in saline estuaries. *Environ. Sci. Technol.* 47, 12844–12851. doi: 10.1021/es402880u
- Borrok, D., Turner, B. F., and Fein, J. B. (2005). Universal surface complexation framework for modeling proton binding onto bacterial surfaces in geological settings. *Am. J. Sci.* 305, 826–853. doi: 10.2475/ajs.305.6-8.826
- Couason, T., Gelabert, A., Menez, B., and Guyot, F. (2019). Experimental assessment of occurrences and stability of lead-bearing minerals in bacterial biofilms. *Chem. Geol.* 505, 23–35. doi: 10.1016/j.chemgeo.2018.11.023
- Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R., and Lappin-Scott, H. M. (1995). Microbial biofilms. *Annu. Rev. Microbiol.* 49, 711–745. doi: 10.1146/annurev.mi.49.100195.003431
- Ferry, J. L., Craig, P., Hexel, C., Sisco, P., Frey, R., Pennington, P. L., et al. (2009). Transfer of gold nanoparticles from the water column to the estuarine food web. *Nat. Nanotechnol.* 4, 441–444. doi: 10.1038/NNANO.2009.157
- Flemming, H. C., and Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nat. Rev. Microbiol.* 8, 623–633. doi: 10.1038/nrmicro2415
- Flemming, H. C., and Wuertz, S. (2019). Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nat. Rev. Microbiol.* 17, 247–260. doi: 10.1038/s41579-019-0158-9

- Fulaz, S., Hiebner, D., Barros, C. H. N., Devlin, H., Vitale, S., et al. (2019a). Ratiometric imaging of the in situ pH distribution of biofilms by use of fluorescent mesoporous silica nanosensors. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 11, 32679–32688. doi: 10.1021/acsami.9b09978
- Ha, J., Gelabert, A., Spormann, A., and Brown, G. E. Jr. (2010). Role of extracellular polymeric substances in metal ion complexation on *Shewanella oneidensis*: batch uptake, thermodynamic modeling, ATR-FTIR, and EXAFS study. *Geochim. Cosmochim. Acta* 74, 1–15. doi: 10.1016/j.gca.2009.06.031
- Hidalgo, G., Burns, A., Herz, E., Hay, A. G., Houston, P. L., Wiesner, U., et al. (2009). Functional tomographic fluorescence imaging of pH microenvironments in microbial biofilms by use of silica nanoparticle sensors. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 7426–7435. doi: 10.1128/AEM.01220-09
- Ikuma, K., Decho, A. W., and Lau, B. L. T. (2015). When nanoparticles meet biofilms-interactions guiding the environmental fate and accumulation of nanoparticles. *Front. Microbiol.* 6:591. doi: 10.3389/fmicb.2015.00591
- Ménez, B., Pasini, V., and Brunelli, D. (2012). Life in the hydrated suboceanic mantle. *Nat. Geosci.* 5, 133–137. doi: 10.1038/NNGEO1359
- PIREN Seine, rapport de synthèse phase 6 2011-2015, « Ecologie et écotoxicologie : Les déterminants de la qualité écologique du milieu aquatique »
- Stewart, P. S. (2003). Diffusion in biofilms. *J. Bacteriol.* 185, 1485–1491. doi: 10.1128/JB.185.5.1485-1491.2003
- Templeton, A. S., Trainor, T. P., Spormann, A. M., and Brown, G. E. Jr. (2003a). Selenium speciation and partitioning within *Burkholderia cepacia* biofilms formed on α -Al₂O₃ surfaces. *Geochim. Cosmochim. Acta* 67, 3547–3557. doi: 10.1016/S0016-7037(03)00212-6
- Wang, Y., Gélabert, A., Michel, F. M., Choi, Y., Gescher, J., Ona-Nguema, G., et al. (2016a). Effect of biofilm coatings at metal-oxide/water interfaces I: Pb(II) and Zn(II) partitioning and speciation at *Shewanella oneidensis*/metal-oxide/water interfaces. *Geochim. Cosmochim. Acta* 188, 368–392. doi: 10.1016/j.gca.2016.04.052
- Wang, Y., Gélabert, A., Michel, F. M., Choi, Y., Peter, E., Spormann, A. M., et al. (2016b). Effect of biofilm coatings at metal-oxide/water interfaces II: competitive sorption between Pb(II) and Zn(II) at *Shewanella oneidensis*/metal-oxide/water interfaces. *Geochim. Cosmochim. Acta* 188, 396–406. doi: 10.1016/j.gca.2016.04.054
- Warren, L. A., and Haack, E. A. (2001). Biogeochemical controls on metal behaviour in freshwater environments. *Earth Sci. Rev.* 54, 261–320. doi: 10.1016/S0012-8252(01)00032-0
- Yu, Q., Szymanowski, J., Myneni, S. C. B., and Fein, J. B. (2014). Characterization of sulfhydryl sites within bacterial cell envelopes using selective site-blocking and potentiometric titrations. *Chem. Geol.* 373, 50–58. doi: 10.1016/j.chemgeo.2014.02.027