

# Les endosymbioses chimioautotrophes : des modèles contemporains de la symbiogenèse ?

par Sophie Sanchez, Stéphane Hourdez & François H. Lallier

Laboratoire Adaptation et Diversité en Milieu Marin, UPMC CNRS UMR 7144, Station Biologique de Roscoff, Place Georges Teissier, 29682 Roscoff cedex.

Correspondance : lallier@sb-roscoff.fr

Reçu le 22 juin 2007

## RÉSUMÉ

L'oxygène semble bien être un des facteurs clés pour comprendre l'évolution de la vie sur Terre. Quasiment absent de l'atmosphère durant plus de 2 milliards d'années, son accumulation ultérieure est corrélée à l'activité photosynthétique des cyanobactéries et à l'apparition des procaryotes aérobies, puis à celle des eucaryotes, tous primitivement aérobies, et enfin, à celle des organismes complexes pluricellulaires. Néanmoins il subsiste aujourd'hui à la surface de notre planète, et particulièrement au fond des océans, de nombreux environnements réduits (sources hydrothermales profondes, zones de suintements froids, apports massifs de matière organique,...) au sein desquels une grande diversité de Procaryotes anaérobies ou micro-aérobies continue de prospérer, y compris certains chimioautotrophes, fixant le carbone inorganique grâce à l'énergie chimique comme celle de l'oxy-

dation des sulfures par exemple. Quelques métazoaires parviennent à coloniser ces milieux, les plus abondants formant des endosymbioses avec ces procaryotes. Les exemples les mieux étudiés (les bivalves du genre *Bathymodiolus*, l'annélide vestimentifère *Riftia pachyptila*, ou encore les bivalves du genre *Calyptogena*) mettent en évidence de nombreuses différences dans le degré de dépendance entre l'hôte et ses symbiotes et dans le mode de transmission de ceux-ci en particulier. Ce processus évolutif de la symbiose n'est pas sans rappeler les endosymbioses primaires qui sont à l'origine des organites des eucaryotes hétérotrophes (acquisition de la mitochondrie) et des eucaryotes phototrophes (acquisition des chloroplastes), et l'étude de ces modèles contemporains pourrait éclairer cette symbiogenèse d'un jour nouveau, voire révéler l'existence d'une nouvelle lignée, les Eucaryotes thiotrophes.

## SUMMARY Chemoautotrophic endosymbioses: contemporary models for symbiogenesis?

Oxygen appears to be one of the key factors in understanding the evolution of life on Earth. Almost absent during more than 2 billion years, its subsequent increase is correlated with the emergence of oxygenic photosynthesis by Cyanobacteria, followed by aerobic Prokaryotes and eventually Eukaryotes, all primitively aerobic, and more recently, the development of complex multicellular organisms. However, in some reduced environments, still present at the surface of the Earth and even more so in ocean depths (hydrothermal vents, cold seeps, massive organic falls,...), anaerobic or micro-aerobic Prokaryotes continue to grow, including some chemoautotrophic bacteria deriving energy from sulfide oxidation for instance. A few Metazoa have managed to collaborate

with such chemoautotroph Prokaryotes, the most abundant species forming endosymbiotic associations. The most studied of these endosymbioses (the mussels *Bathymodiolus*, the vestimentiferan tubeworm *Riftia pachyptila*, or the clams *Calyptogena*) have revealed important differences in the degree of interdependence between host and symbionts, and in the mode of symbiont transmission. The evolutive process of these symbioses is reminiscent of the primary endosymbioses which have given rise to the organelles of heterotrophic Eukaryotes (mitochondria) and phototrophic Eukaryotes (chloroplasts). The study of these modern days biological models could shed light on symbiogenesis itself and also potentially reveal thiotrophic Eukaryotes as a new lineage.

Aujourd'hui, tous les Eucaryotes sont fondamentalement des organismes aérobies, utilisant l'oxygène comme accepteur final de leur chaîne de transport des électrons. Pourtant, à l'échelle des temps géologiques, l'oxygène

n'est apparu qu'assez récemment dans l'histoire de la biosphère de notre planète (Fig. 1) (Canfield, 2005 ; Catling & Claire, 2005). Les premières étapes de l'évolution de la vie se sont très certainement déroulées dans un

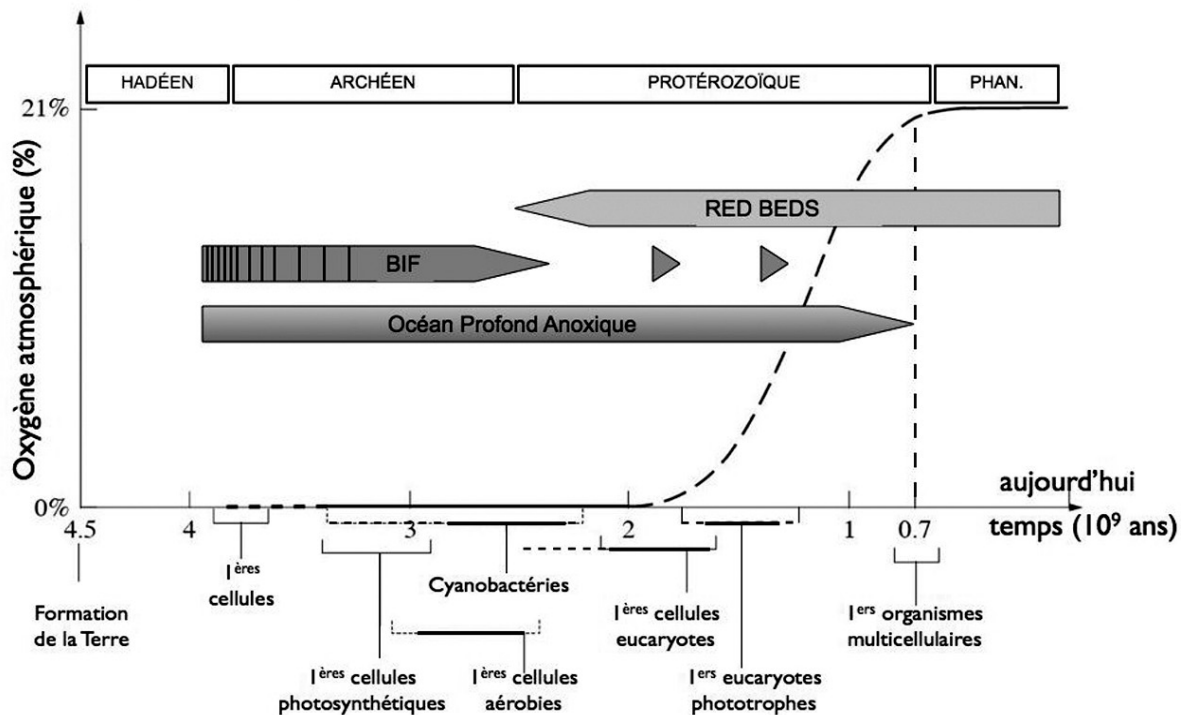


FIG. 1. – Relation entre l'évolution de la teneur en oxygène dans l'atmosphère et un scénario probable de l'évolution cellulaire. Les pointillés horizontaux indiquent les incertitudes sur la datation de ces événements anciens. La ligne verticale pointillée souligne la concordance entre l'apparition des Eucaryotes multicellulaires et un niveau d'oxygénation atmosphérique proche du niveau actuel. Les Cyanobactéries sont les premières cellules procaryotes photosynthétiques oxygéniques : avant leur apparition l'oxygène n'était produit qu'en quantité négligeable de façon abiotique par photodissociation de l'eau. BIF : "banded iron formations" ou gisements de fer rubané, témoins de la production d'oxygène sans accumulation notable dans l'atmosphère ; Red Beds : couches rouges, formations géologiques indicatrices de la présence d'oxygène atmosphérique. PHAN : Phanérozoïque. (Adapté de Vellai & Vida, 1999).

environnement anoxique et fortement réducteur et les Procaryotes ont alors développé une grande diversité de métabolismes pour exploiter l'énergie chimique, disponible sous forme de couples oxydo-réducteurs variés. Jusqu'à ce que certains procaryotes, les cyanobactéries, parviennent à utiliser très efficacement l'énergie lumineuse en couplant la réduction du dioxyde de carbone à l'oxydation de l'eau, il y a environ 2,7 milliards d'années. Une conséquence majeure de ce nouveau métabolisme c'est la production d'oxygène qui, à cette époque, était immédiatement absorbé par l'abondance d'éléments réduits (ce qui a laissé des traces dans les sédiments anciens sous la forme de "banded iron formations" ou BIF, voir Fig. 1). Ce n'est donc qu'avec un délai certain (près de 500 millions d'années) et très progressivement que l'oxygène a pu s'accumuler dans l'atmosphère et dans l'hydrosphère, et fort heureusement car l'oxygène est une molécule toxique pour les organismes qui ne disposent pas des mécanismes *ad hoc* pour se protéger de ses effets délétères (générés par les espèces réactives de l'oxygène, ROS). Certains Procaryotes, des  $\alpha$ -protéobactéries, ont pu alors développer un nouveau métabolisme permettant de coupler la réduction de l'oxygène, nécessaire pour lutter contre sa toxicité, avec la production d'énergie sous forme d'ATP : la respiration aérobie.

L'origine des premières cellules eucaryotes, plus grandes et plus complexes que les Procaryotes, est encore

débatte de nos jours, mais un grand nombre de spécialistes s'accordent à penser que la symbiose a pu jouer un grand rôle dans cet événement majeur de l'évolution de la vie (Fig. 2) (Embley & Martin, 2006 ; Poole & Penny, 2007). Une première fois avec l'une de ces  $\alpha$ -protéobactéries capables d'utiliser efficacement l'oxygène et qui deviendront les mitochondries, ces organites caractéristiques de tous les Eucaryotes contemporains (les quelques exceptions connues correspondent à des pertes secondaires, Fig. 2). Et une seconde fois avec une cyanobactérie, dotant certains Eucaryotes, les phototrophes, de la capacité d'effectuer simultanément photosynthèse oxygénique et respiration aérobie. Mais ces événements sont si anciens que les traces qu'ils ont laissées ouvrent trop souvent la voie à des interprétations divergentes quant à leur déroulement précis (Embley & Martin, 2006).

À notre époque, dans notre monde désormais aérobie, il existe pourtant encore de nombreuses poches de milieux réduits qui ont pu au cours des âges préserver une grande diversité de Procaryotes. Parmi ceux-ci certains sont capables de réaliser la chimiosynthèse en récupérant l'énergie chimique pour réduire le  $\text{CO}_2$  en carbone organique : ce sont des chimioautotrophes. Et dans certains milieux réduits particuliers, là où les autres sources de nourriture sont rares, des Eucaryotes ont su mettre à profit ces bactéries chimioautotrophes pour prospérer dans les environnements les plus inattendus : sources hydro-

thermales profondes, zones de suintements froids, sédiments anoxiques ou carcasses de baleines. Les animaux les plus abondants dans ces milieux vivent en fait en symbiose avec ces bactéries chimioautotrophes et présentent divers degrés d'intégration biologique : caractère facultatif ou obligatoire, ecto- ou endosymbiose, transmission horizontale ou verticale... Ces animaux symbiotiques pourraient ainsi constituer des modèles contem-

porains des événements supposés avoir abouti à l'intégration des  $\alpha$ -protéobactéries et des cyanobactéries, respectivement en mitochondries et chloroplastes.

Où se trouvent ces milieux réduits, quels types d'organismes y trouve-t-on, et comment vivent ces symbioses chimioautotrophes ? Ce sont des questions que les scientifiques se posent depuis leur découverte, il y a maintenant une trentaine d'années.

## LES MILIEUX MARINS RÉDUITS CONTEMPORAINS

C'est en effet à partir de 1977, après la découverte de véritables oasis de vie autour des sources hydrothermales profondes gisant par près de 2500 mètres de fond au large des Galápagos (Corliss *et al.*, 1979), qu'un regain d'intérêt pour les écosystèmes chimiosynthétiques s'est manifesté. La circulation hydrothermale et les éruptions volcaniques qui prennent place au niveau des dorsales océaniques constituent un mécanisme majeur par lequel le globe terrestre perd quantité d'énergie sous forme de chaleur. Ce système volcanique qui s'étend sur plus de 60 000 kilomètres au fond des océans est à l'origine de l'écartement des plaques lithosphériques. Les milieux hydrothermaux profonds sont localisés précisément le long de ces rifts (voir la localisation des sites connus à ce jour sur la figure 3). À la dorsale de l'océan Pacifique oriental (EPR, *East Pacific Rise*), la dorsale Médio-Atlantique, la dorsale Arctique et la dorsale de l'océan Indien, s'ajoutent les bassins arrière-arc du sud-ouest Pacifique et certains volcans intra-plaques. Pour l'ensemble de ces sites, la formation des cheminées hydrothermales suit le même processus : l'eau de mer dense et froide pénètre dans les fissures du basalte et réagissant avec la roche chaude sous-jacente, se charge en composés réduits (sulfure d'hydrogène  $H_2S$ , méthane  $CH_4$ , ammonium  $NH_4^+$ ,...) et en éléments métalliques (manganèse  $Mn^{2+}$ , fer  $Fe^{2+}$ , lithium  $Li^+$ , zinc  $Zn^{2+}$ ,...). Le fluide hydrothermal résultant, de composition variable selon les sites mais toujours chaud, anoxique et moins dense, remonte et rejaillit à la surface sous forme de geyser ou de diffuseur. À plus de  $350^\circ C$ , l'interaction du fluide chaud avec l'eau de mer froide résulte en la précipitation de minéraux métalliques générant un panache plus ou moins sombre (fumeurs noirs ou fumeurs blancs) et permettant aussi la construction progressive des cheminées hydrothermales.

En certains endroits des marges continentales, à des profondeurs variant de 400 à 8000 mètres, se trouvent d'autres types de milieux réduits, les sources froides ou suintements froids ("*cold seeps*"). Ces milieux sont caractérisés par l'émission profonde de fluides froids riches en  $CH_4$  qui peut avoir une origine biologique (décomposition de matière organique) ou thermogénique (transformation rapide de matière organique causée par de fortes températures et de fortes pressions). Dans certaines sources froides, la réduction des sulfates par des bactéries méthanotrophes produit de fortes concentra-

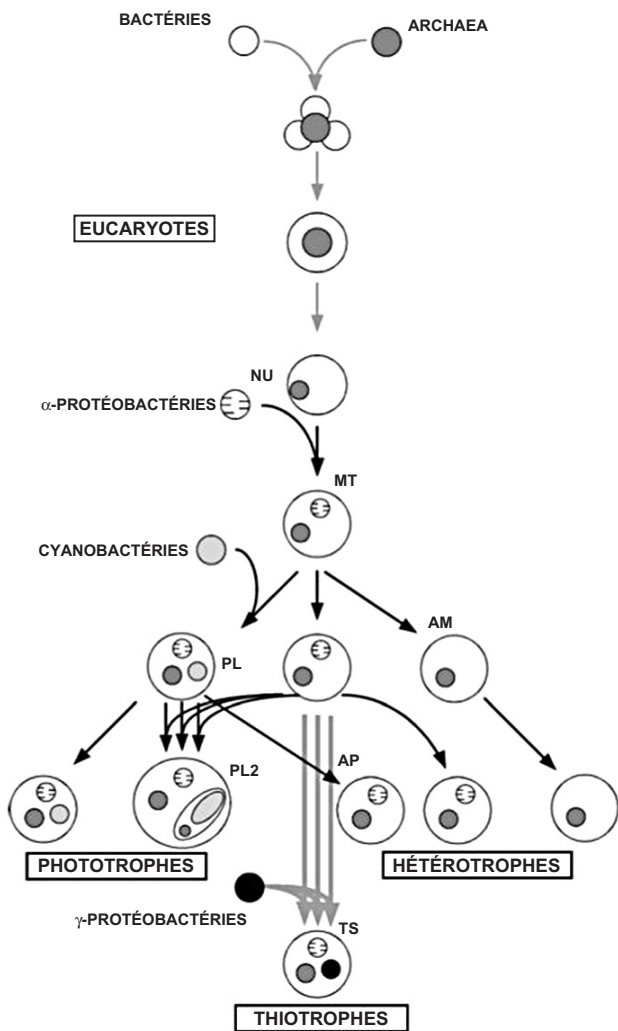


FIG. 2. – Scénario évolutif hypothétique de l'origine et de la diversification des Eucaryotes mettant en exergue le rôle de l'endosymbiose. En haut : les premiers Eucaryotes sont peut-être issus d'une association entre Bacteria et Archaea, celle-ci étant à l'origine du noyau (NU). Au centre : les deux événements d'endosymbiose primaire qui ont donné naissance aux mitochondries (MT) et aux chloroplastes (PL) à partir d' $\alpha$ -protéobactéries et de cyanobactéries respectivement. Les événements ultérieurs comprennent des endosymbioses secondaires (PL2) et la perte des symbiotes primaires (AM, AP) pour aboutir aux différentes lignées Eucaryotes phototrophes et hétérotrophes. En bas : addition hypothétique d'un nouvel événement d'endosymbiose primaire avec une  $\gamma$ -protéobactérie sulfuro-oxydante (TS) donnant naissance à la lignée des Eucaryotes thiotrophes. (Figure tirée de Lallier, 2006, avec l'aimable autorisation des éditions de la Station Biologique de Roscoff).

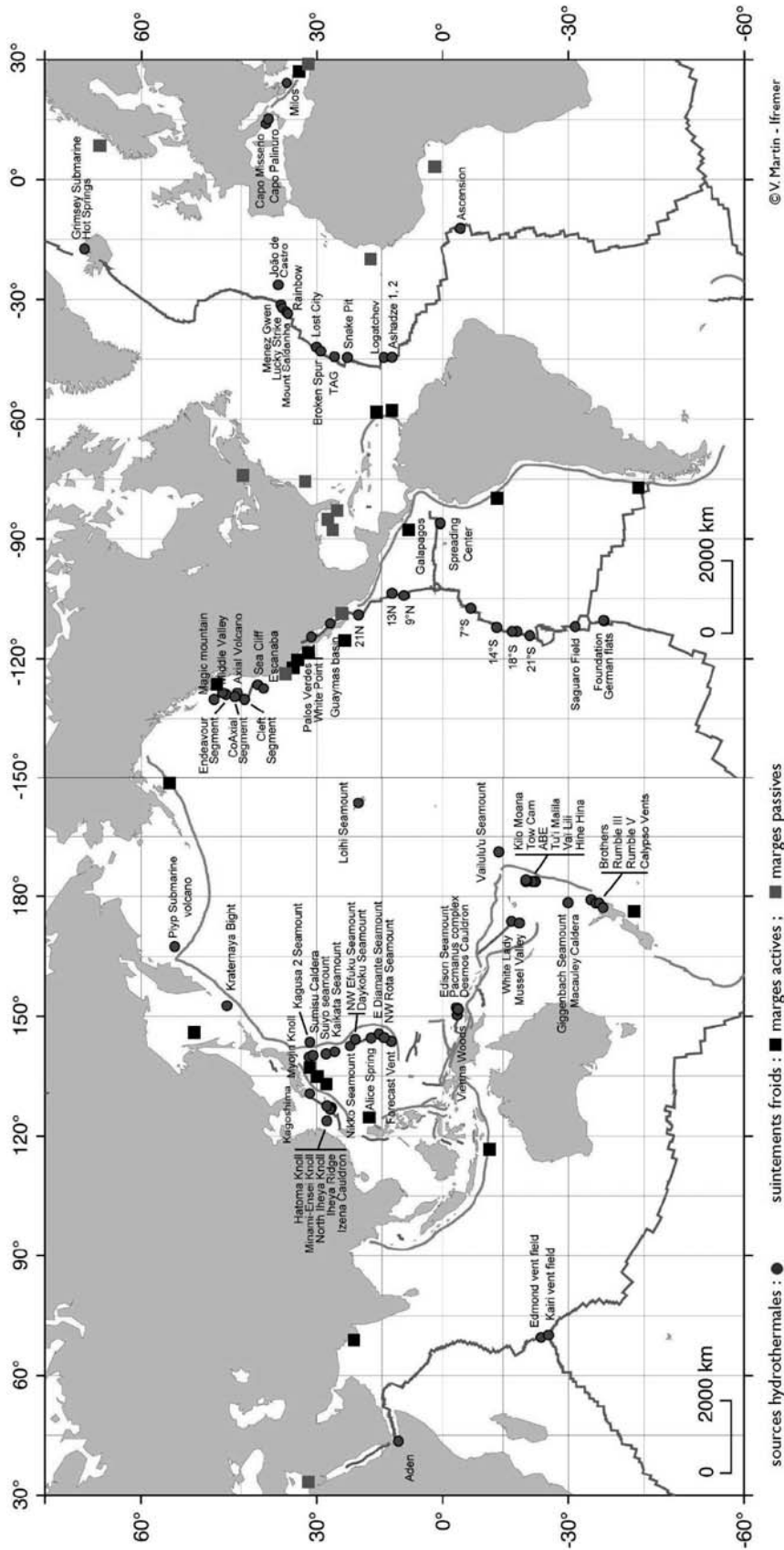


FIG. 3. — Carte des principaux sites réduits profonds explorés depuis 1977 (Galapagos) jusqu'en 2006. (Adapté de Desbruyères *et al.*, 2006, pour les sites hydrothermaux et complété par les zones de suintements froids). À noter l'absence de sites reconnus dans l'océan Austral circum-antarctique, l'Atlantique sud et une bonne partie de l'océan Indien, certainement par défaut d'exploration à ce jour.

tions en  $H_2S$  dans les sédiments superficiels. Au sein des marges actives associées à des zones de subduction, ces milieux peuvent être constitués de volcans de boue (par exemple au Japon et en Méditerranée orientale, Fig. 3). Au sein des marges passives, les écosystèmes sont généralement associés à des réservoirs de pétrole ou de gaz (notons en particulier les sites situés à la base de l'escarpement de Floride, dans le golfe du Mexique et dans l'Ouest africain) mais aussi à des volcans de boue.

Ces milieux profonds particuliers ne sont pas les seuls environnements marins réduits : dans tous les fonds sédimentaires, l'oxygène dissous dans l'eau interstitielle est rapidement consommé par la biomasse présente dans la couche superficielle, permettant plus en profondeur le développement de métabolismes bactériens anaérobies générateurs de sulfures. Les sédiments fins des baies envasées ou les eaux calmes des mangroves sont le siège d'une forte production de matière organique génératrice de sulfures juste sous la surface du sédiment. Le phénomène peut être accentué lorsque l'eau de fond est elle-même déjà hypoxique ou anoxique, comme cela se passe dans des eaux soumises à une eutrophisation intense et saisonnière (Kattegatt, zones d'*upwelling*,...), ou dans des fonds isolés, coupés de la circulation profonde par un seuil (fjords, Mer Noire,...).

Enfin, des apports massifs de matière organique sur les fonds abyssaux peuvent constituer des écosystèmes réduits très localisés et relativement éphémères, mais néanmoins rapidement colonisés par une microflore et une faune endémiques et opportunistes. Il s'agit par exemple des chutes de cadavres d'animaux massifs (les baleines aujourd'hui, les reptiles marins à l'ère secondaire) ou de gros débris végétaux (bois coulés). Le développement rapide de bactéries aérobies utilise localement l'oxygène et ne laisse que les sulfates comme accepteurs d'électrons pour d'autres bactéries anaérobies génératrices de sulfures. Ce type d'écosystèmes pourrait jouer un rôle non négligeable sur le long terme en constituant des refuges transitoires pour abriter des communautés d'organismes endémiques capables de coloniser également les écosystèmes des sources hydrothermales ou des sources froides.

Bien que tous ces milieux partagent le caractère réduit qui les réunit ici, ils présentent de grandes différences dans la distribution spatiale et temporelle de ces composés réduits. Le milieu hydrothermal peut présenter des valeurs extrêmes de température, avec un fluide atteignant  $350^\circ C$  à sa sortie de la cheminée, mais offrant des températures plus basses, autour de  $10^\circ C$  dans la zone de mélange. Dans cette zone,  $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $H_2S$  ou  $CH_4$  sont tous accessibles mais à des concentrations fortement variables à courte échelle de temps ou d'espace. En effet, par rapport aux autres milieux réduits, les sources hydrothermales sont des systèmes très dynamiques, caractérisés par des émissions chaotiques. Les suintements froids et sédiments réduits montrent au contraire des niveaux de concentrations plus stables mais très stratifiés, bien que dans la zone côtière de fortes variations saisonnières puissent s'établir.

La pérennité de ces environnements réduits est également très variable. La longévité des systèmes hydrothermaux est fortement tributaire des épisodes magma-

tiques et tectoniques (Delaney *et al.*, 1998 ; Shank *et al.*, 1998). Un site donné a ainsi une espérance de vie d'une dizaine d'années sur les dorsales les plus rapides (Pacifique Est) jusqu'à quelques centaines d'années sur les dorsales lentes (Atlantique), encore que nous manquions de recul dans l'étude de ces systèmes pour pouvoir l'affirmer. Les suintements froids des marges passives, sans activité tectonique, forment au contraire des sites réduits beaucoup plus pérennes, établis sans doute sur des périodes de plusieurs dizaines de milliers d'années.

## LA VIE DANS LES MILIEUX MARINS RÉDUITS

Avec des concentrations importantes en  $H_2S$  et  $CH_4$  et des conditions de vie très souvent hypoxiques, voire anoxiques, ces milieux peuvent être qualifiés d'extrêmes pour la plupart des organismes eucaryotes aérobies. Pourtant, autour de la quasi-totalité des sites découverts à ce jour (Fig. 3), s'établissent des communautés d'organismes caractérisées par une grande abondance et une forte endémicité (Tunnicliffe, 1991). D'autres communautés similaires, composées d'espèces différentes mais appartenant souvent à des familles ou taxons proches ou identiques, s'établissent autour des sites de suintements froids (Sibuet & Olu, 1998 ; Tunnicliffe, 1991). Certains taxons ont une distribution restreinte : ainsi les annélides Alvinellidae, spécialistes du pôle chaud, ne sont connus que sur les sites hydrothermaux du Pacifique (Desbruyères *et al.*, 1998). Beaucoup d'autres familles endémiques ont par contre des représentants autour des sites hydrothermaux et des suintements froids, voire même sur les cadavres de baleines (Smith & Baco, 2003), comme les annélides vestimentifères (Siboglinidae) avec par exemple *Riftia pachyptila* (EPR), *Lamellibrachia luymesii* (Golfe du Mexique) ou *Escarpa southwardae* (Ouest Afrique), les bivalves Bathymodiolinae avec *Bathymodiolus thermophilus* (EPR) ou *Bathymodiolus childressii* (Golfe du Mexique), les bivalves Vesicomysidae avec *Calyptogena magnifica* (EPR) ou *Calyptogena kilmeri* (Monterey bay). Certaines familles ont également des représentants côtiers et profonds comme les bivalves Lucinidae ou Thyasiridae.

En l'absence de lumière, le réseau trophique de la plupart de ces écosystèmes ne peut pas reposer sur la photosynthèse comme dans la zone euphotique des océans ou en milieu terrestre mais repose essentiellement sur la chimiosynthèse. C'est la transformation de l'énergie chimique potentielle des composés réduits présents dans ces milieux en énergie « biologique », l'ATP, qui permet à des organismes procaryotes de synthétiser des sucres à partir du carbone inorganique issu du dioxyde de carbone ( $CO_2$ ) ou du méthane ( $CH_4$ ). Parmi ces procaryotes chimiosynthétiques, on distingue ainsi des bactéries méthanotrophes qui utilisent le méthane à la fois comme source d'énergie et de carbone et des procaryotes chimiolithoautotrophes, dont des sulfo-oxydants qui utilisent l'énergie d'oxydation du sulfure d'hydrogène et le dioxyde de carbone comme source de carbone. Par rapport aux eaux littorales de surface, cette flore bactérienne est

beaucoup plus dense en milieu hydrothermal (Karl *et al.*, 1980 ; Prieur *et al.*, 1989). Sans conteste, le méthane et le sulfure jouent donc un rôle essentiel dans le maintien de ces communautés : des *blooms* microbiens sont par exemple observés à chaque début du cycle magmatique, formant des mattes épaisses et suggérant leur capacité à exploiter très rapidement les composés chimiques réduits dès qu'ils sont disponibles dans les émissions de fluide hydrothermal.

Ces communautés microbiennes chimiosynthétiques constituent les producteurs primaires permettant l'établissement d'un réseau trophique particulier : aux bactéries hétérotrophes, qui viennent enrichir la diversité spécifique des consortiums bactériens, s'ajoutent des métazoaires, consommateurs primaires exploitant directement cette biomasse bactérienne, suivis d'une cohorte de consommateurs secondaires, prédateurs, nécrophages, brouteurs ou dépositivores. Par exemple, autour des sources hydrothermales, on trouve ainsi l'annélide polychète *Alvinella pompejana*, le gastéropode *Lepetodrilus fucensis* ou la crevette *Rimicaris exoculata* qui se nourrissent directement des procaryotes vivant à l'état libre. En milieu côtier, les communautés bactériennes benthiques des sédiments meubles forment la source trophique d'une faune psammivore, comme par exemple l'annélide polychète *Arenicola marina*, souvent présente en abondance mais peu diversifiée.

Mais au sein des écosystèmes réduits, les espèces les plus abondantes vivent généralement en symbiose avec des bactéries chimioautotrophes, constituant ainsi des associations métazoaires-procaryotes capables d'exploiter plus directement et plus efficacement les ressources trophiques inorganiques de ces milieux. Au sens de De Bary (1879), la symbiose est une association durable entre deux organismes différents vivant en étroite interaction. Les caractéristiques de telles associations sont variables : ectosymbiose, lorsque les organismes restent anatomiquement séparés, ou endosymbiose lorsque les cellules de l'un des partenaires contiennent l'autre ; caractère obligatoire ou facultatif du mode de vie symbiotique pour l'un et/ou l'autre des partenaires ce qui sous-entend des degrés divers de dépendance physiologique ; transmission du symbiote d'une génération à l'autre de l'hôte ou acquisition *de novo* à chaque génération ;... Les écosystèmes chimiosynthétiques nous offrent des exemples illustrant chacune de ces caractéristiques du mode de vie symbiotique.

Lorsque les symbiotes vivent à l'extérieur des cellules de leur hôte, on parle d'ecto- ou épisymbiose. De tels cas d'épisymbiose entre des protozoaires et des bactéries chimiosynthétiques sulfo-oxydantes ont été rapportés chez deux ciliés, le colonial *Zoothamnium niveum* et le solitaire *Vorticella* sp., communs au niveau des mangroves du récif de Belize (Bauer-Nebelsick *et al.*, 1996 ; Ott & Bright, 2004). Ces deux organismes sont complètement recouverts d'un tapis blanc bactérien, dont ils se nourrissent abondamment ce qui leur permet de maintenir un fort taux de croissance. Parmi les métazoaires, de nombreux exemples ont été décrits, notamment chez les Nématodes (Ott *et al.*, 2004). L'un des exemples les plus récemment étudiés et extrêmement démonstratif est le

ver oligochète *Olavius algarvensis* qui vit dans les sédiments côtiers réduits, notamment à proximité des herbiers de Zostères. Ce ver entretient juste sous sa cuticule de multiples symbiotes extracellulaires (au moins cinq souches distinctes) pouvant réduire le sulfate ( $\delta$ -protéobactéries) ou oxyder l' $H_2S$  ( $\gamma$ -protéobactéries) pour générer l'énergie nécessaire (Woyke *et al.*, 2006). Les différents métabolismes réalisables en combinant les capacités de chacun des acteurs seraient mis en jeu en fonction du niveau de vie dans l'épaisseur du sédiment, permettant la vie de cette symbiose dans une large gamme de conditions physico-chimiques entre mondes anoxique et aérobie. On trouve également des ecto-symbioses autour des sources hydrothermales profondes, et notamment chez les organismes colonisant le pôle chaud, à même les cheminées hydrothermales. Ainsi, *Alvinella pompejana* a le dos couvert de bactéries fixées sur des excroissances cuticulaires, certaines d'entre elles étant des chimioautotrophes sulfo-oxydantes. De manière similaire, la crevette *Rimicaris exoculata*, dont les essaims colonisent les cheminées de la dorsale médio-atlantique, « cultive » une communauté de bactéries dans ses chambres branchiales sur les épipodites de ses pièces buccales. Dans ces deux exemples, le rôle trophique de ces ectosymbioses bactériennes n'est pas complètement élucidé : culture fourragère, translocation de nutriments ou encore protection contre la toxicité du milieu, font toujours partie des hypothèses envisagées (Desbruyères *et al.*, 1998 ; Ott *et al.*, 2004).

La biomasse la plus importante rencontrée en milieu hydrothermal et en suintement froid est néanmoins constituée de consommateurs primaires qui ont tous développé une stratégie d'association endosymbiotique. Les bactéries sont donc localisées à l'intérieur de cellules différenciées de l'hôte, les bactériocytes. Ces bactéries sont assez peu diversifiées : ce sont soit des sulfo-oxydantes (pour la plupart des  $\gamma$ -protéobactéries, mais il existe aussi des  $\epsilon$ -protéobactéries) ou des méthanotrophes ( $\gamma$ -protéobactéries) qui se répartissent dans une demi-douzaine de clades (Stewart *et al.*, 2005). Les invertébrés marins auxquels ces bactéries sont associées appartiennent aux Annélides (Polychètes et Oligochètes) ou aux Mollusques (Bivalves et Gastéropodes). Si on se limite strictement aux symbioses intracellulaires, le nombre de familles est encore plus restreint : Siboglinidae chez les Annélides, Provannidae chez les Gastéropodes, Solemyidae, Lucinidae, Thyasiridae, Vesicomidae et Mytilidae chez les Bivalves (Stewart *et al.*, 2005). Dans cet article nous nous limiterons à décrire les principales caractéristiques de ces endosymbioses sur trois exemples particulièrement démonstratifs (Fig. 4) : le bivalve Mytilidae *Bathymodiolus azoricus*, l'annélide Siboglinidae *Riftia pachyptila* et le bivalve Vesicomidae *Calyptogena magnifica*.

## LES DEGRÉS D'INTÉGRATION DES ENDOSYMBIOSES CHIMIOAUTOTROPHES

Dans l'établissement d'une endosymbiose, la première étape à laquelle on pense est l'*intégration cytologique*. La localisation anatomique des endosymbiotes est

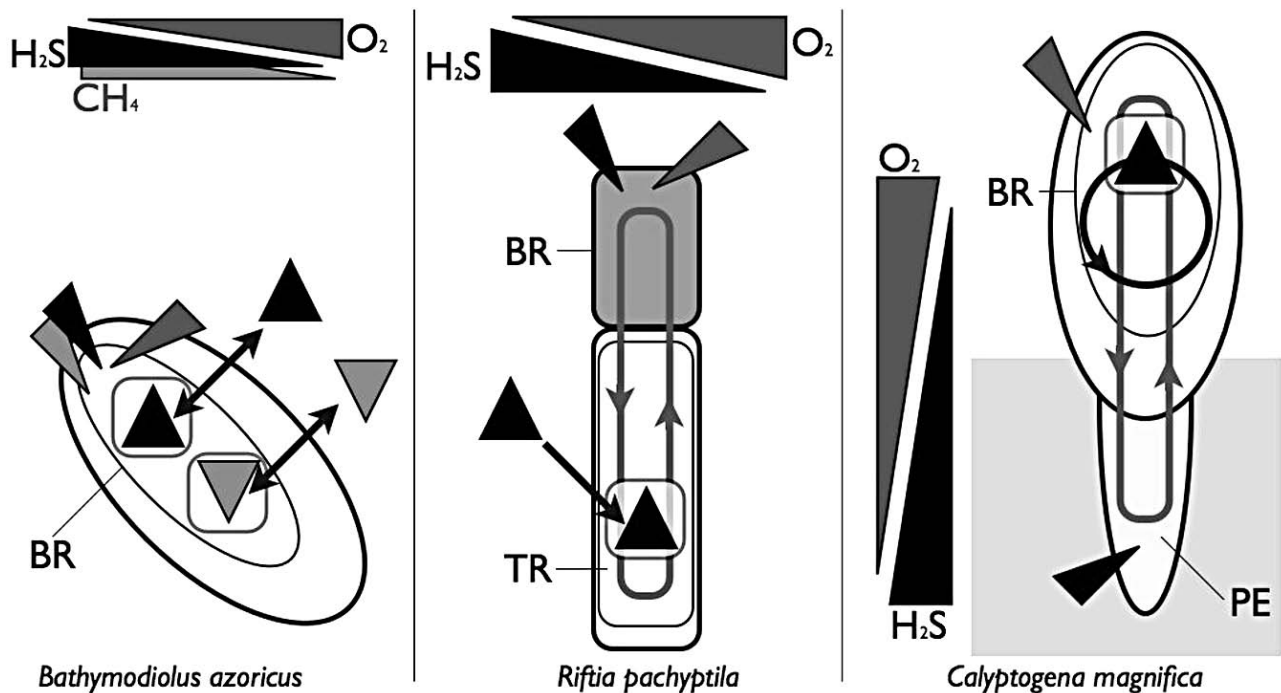


FIG. 4. – Représentation schématique de trois symbioses hydrothermales chimioautotrophes. *Bathymodiolus azoricus* vit dans un gradient avec des concentrations variables dans le temps d'oxygène, sulfure d'hydrogène et méthane. Cette espèce abrite dans ses branchies (BR) des bactéries sulfo-oxydantes (▲) et méthanotrophes (▼) qu'elle acquiert dans l'environnement et qu'elle peut perdre (↔). *Riftia pachyptila* vit dans un gradient avec des concentrations variables dans le temps d'oxygène et de sulfure d'hydrogène qu'elle capte à travers sa branchie (BR) et transporte jusqu'au trophosome (TR) pour alimenter les bactéries endosymbiotiques sulfo-oxydantes (▲) qu'elle a acquies une fois pour toutes lors de son recrutement (φ). *Calyptogena magnifica* vit dans un gradient spatial et capte l'oxygène dans l'eau et les sulfures dans les fissures du basalte où elle insère son pied extensible (PE) pour alimenter les bactéries endosymbiotiques sulfo-oxydantes (▲) logées dans ses branchies (BR) et qu'elle transmet à sa descendance (v).

variable mais les bactéries endosymbiotiques finissent toujours par se retrouver dans des vacuoles intra-cytoplasmiques. Chez les bivalves (modioles *Bathymodiolus*, clams *Calyptogena*, Lucinidae *Codakia*) les bactéries sont logées dans les branchies des hôtes, dans les cellules de l'épithélium branchial. Le tissu branchial des espèces endosymbiotiques est toujours hypertrophié et d'aspect turgescent mais la distance entre bactéries et milieu extérieur reste courte, laissant supposer des échanges de métabolites milieu extérieur – hôte – bactéries relativement aisés. À noter que chez différentes espèces de bivalves Thyasiridae on peut observer une progression depuis l'état d'ectosymbiose vers celui d'endosymbiose, avec un état intermédiaire où les bactéries se logent entre les microvillosités de la surface apicale des cellules branchiales (Dufour, 2005). Chez les Siboglinidae tels que *Riftia pachyptila*, les bactériocytes sont situés dans un tissu symbiotique spécialisé, le trophosome, qui forme un organe interne en lieu et place du tube digestif (absent chez l'adulte). Dans ce cas les bactéries se trouvent complètement isolées du milieu extérieur, et dépendent donc entièrement de leur hôte et de sa circulation sanguine pour la fourniture des composés inorganiques nécessaires à son métabolisme (Fig. 4).

Le caractère facultatif ou obligatoire de la symbiose et le degré d'interdépendance entre les deux acteurs défi-

nissent le niveau **d'intégration physiologique**. Chez *Bathymodiolus* il est encore limité : les moules possèdent un tube digestif rudimentaire et sont encore capables d'ingérer des particules en suspension pour se nourrir (Page *et al.*, 1991) et l'espèce *B. azoricus* peut même perdre ses bactéries dans certaines conditions défavorables. Cette capacité de nutrition alternée, la mixotrophie, permet aux populations de modioles de résister plus longtemps lors de l'obstruction temporaire des conduits hydrothermaux. Par contre, pour *Riftia pachyptila* ou *Calyptogena magnifica*, dépourvus de tube digestif, la symbiose revêt un caractère obligatoire pour l'hôte: si la source de fluide se tarit c'est l'hécatombe dans les champs de vers ou de clams, spectacle de tubes et de coquilles vides maintes fois observés sur le fond.

Dans tous les cas, le métabolisme sulfo-oxydant des bactéries nécessite des concentrations importantes de sulfure, mais surtout d'oxygène. La consommation d'oxygène de *Riftia* est multipliée par quatre lorsqu'on lui fournit des sulfures en concentration non limitante (Childress *et al.*, 1991). La zone de mélange entre fluide hydrothermal, riche en sulfure, et l'eau de fond, relativement bien oxygénée, est donc propice au développement de telles symbioses. Le bivalve *C. magnifica*, qui s'établit plus loin des sources, puise les sulfures entre les fissures du basalte en y insérant son pied extensible (Fig. 4). Dans

les zones de sédiments réduits, où, comme on l'a vu précédemment, les sulfures restent généralement piégés au sein de la couche anoxique du sédiment, certaines espèces procèdent de même, puisant les sulfures dans le sous-sol et l'oxygène dans l'eau sus-jacente. C'est le cas des bivalves de la famille des Thyasiridés (Dufour & Felbeck, 2003) ou des Siboglinidae qui colonisent les zones de suintement froid (Freytag *et al.*, 2001). Parfois c'est la mobilité de l'hôte, nématode ou oligochète, dans la zone d'interface entre couche oxiqne et anoxique, qui permet d'alimenter alternativement le métabolisme des symbiotes en oxygène et en sulfure (Bright & Giere, 2005; Ott *et al.*, 2004).

Enfin, le transfert de molécules organiques synthétisées par les bactéries endosymbiotiques vers leur hôte peut se faire par translocation moléculaire à travers les membranes ou par digestion intracellulaire des bactéries. La dépendance trophique de l'hôte vis-à-vis des bactéries a été démontrée pour nos trois espèces types, notamment par des mesures d'isotopes stables du carbone et de l'azote montrant une relation très nette entre la composition des bactéries et celle du tissu les renfermant (Colaco *et al.*, 2002). Par ailleurs, l'observation en microscopie électronique de coupes de tissus symbiotique a révélé l'existence de lysosomes renfermant des bactéries dégradées chez plusieurs espèces, en commençant par *Riftia* (Bosch & Grassé, 1984).

La spécificité de la relation symbiotique et les problèmes de reconnaissance inter-spécifiques sont très divers parmi les exemples connus d'endosymbioses. *Bathymodiolus azoricus* abrite ainsi deux souches de bactéries (Duperron *et al.*, 2006; Fiala-Médioni *et al.*, 2002), l'une thiotrophe et l'autre méthanotrophe (Fig. 4). Par contre toutes les espèces de Siboglinidae hydrothermaux de la dorsale EPR abritent une souche apparemment unique de  $\gamma$ -protéobactéries (Feldman *et al.*, 1997). Mais autour des sources du Pacifique Ouest, deux espèces sympatriques de gastéropodes, tous deux des Provannidae, abritent l'un des  $\epsilon$ -protéobactéries (*Alviniconcha hessleri*) et l'autre des  $\gamma$ -protéobactéries (*Ifremeria nautilei*), bien que ces deux souches soient des sulfo-oxydantes (Urakawa *et al.*, 2005). Chez les Vesicomidae on a en revanche une forte spécificité, chaque espèce de clams abritant une souche de  $\gamma$ -protéobactéries distincte, que les hôtes soient phylogénétiquement ou géographiquement proches (Hurtado *et al.*, 2003).

Cette variation dans la spécificité est à mettre en relation avec le mode de transmission des bactéries endosymbiotiques d'une génération à l'autre, et plus largement avec le degré *d'intégration génétique* des deux partenaires. Chez les bivalves de la famille des Vesicomidae, les bactéries sont transmises à la génération suivante *via* les ovocytes (Cary & Giovannoni, 1993a) : c'est une transmission verticale. Cela entraîne une co-évolution entre hôte et symbiote que l'on retrouve en comparant les arbres phylogénétiques des deux partenaires (Hurtado *et al.*, 2003).

Paradoxalement, chez *Riftia*, alors que l'intégration physiologique est très poussée, la transmission des symbiotes d'une génération à l'autre se fait par transmission

horizontale ou environnementale, les juvéniles de *Riftia*, dépourvus de bactéries mais pourvus d'un tube digestif, devant trouver dans leur milieu la souche bactérienne unique qui leur permettra de développer la symbiose. Plus exactement, si l'on en croit les derniers travaux de l'équipe de Monika Bright (Nussbaumer *et al.*, 2006), ce serait la bactérie qui infesterait l'hôte, lequel serait alors capable de limiter et de contrôler la prolifération bactérienne au sein d'un seul type cellulaire, les bactériocytes du trophosome. Les cellules d'autres tissus infectées sur le parcours entre épiderme et trophosome montrent rapidement des figures d'apoptose (Nussbaumer *et al.*, 2006). Dans le cas des moules du genre *Bathymodiolus*, il s'agit aussi d'une transmission horizontale (Won *et al.*, 2003), sans doute plus facile étant donné la localisation branchiale des symbiotes et le caractère plus labile de la symbiose. Les modes de transmission des symbiotes utilisés par les hôtes sont fortement dépendants des contraintes biogéographiques et écologiques qui affectent hôtes et symbiotes (Won *et al.*, 2003). Si la transmission verticale des symbiotes thiotrophes chez *Calymptogena* est efficace pour la colonisation de milieux riches en  $H_2S$ , le mode de transmission environnemental chez *Bathymodiolus* lui permet d'exploiter de façon flexible un régime trophique plus large, les bactéries, qu'elles soient thiotrophes ou méthanotrophes, étant déjà localement adaptées.

## DU SYMBIOTE À L'ORGANITE

Comme nous l'avons vu, dans notre monde dominé par le métabolisme aérobie depuis près d'un milliard d'années (Fig. 1), il subsiste encore de nombreux habitats où les sulfures, naguère prépondérants, sont encore présents (Fig. 3). Les bactéries capables d'utiliser leur potentiel énergétique sont toujours là et certaines espèces d'invertébrés mettent le métabolisme de ces bactéries à profit au sein d'association endosymbiotiques très performantes (Fig. 4). On peut alors se demander pourquoi de telles associations n'ont pas évolué plus avant en intégrant ces symbiotes de façon encore plus intime, les transformant de ce fait en organites. C'est ainsi que sont nées les mitochondries, à partir d' $\alpha$ -protéobactéries capables d'utiliser l'oxygène, et les chloroplastes, à partir de cyanobactéries pouvant convertir l'énergie lumineuse en énergie chimique, donnant naissance aux lignées d'Eucaryotes hétérotrophes aérobies et d'Eucaryotes photoautotrophes avec le succès évolutif que l'on sait (Fig. 2). Les Eucaryotes thioautotrophes existent peut-être sans que nous les ayons encore découverts : la découverte de *Riftia* n'a que 30 ans et nous sommes loin d'avoir catalogué toutes les formes de vie de notre planète (et particulièrement pour les protistes des fonds océaniques, par exemple).

En fait, alors que les Eucaryotes hétérotrophes consomment de l'oxygène et que les Eucaryotes phototrophes en produisent également, les besoins d'une symbiose sulfo-oxydante consistent à la fois en sulfure et, doublement, en oxygène (Fig. 5). L'oxygène est nécessaire aux bactéries pour fixer le carbone inorganique et à l'hôte pour



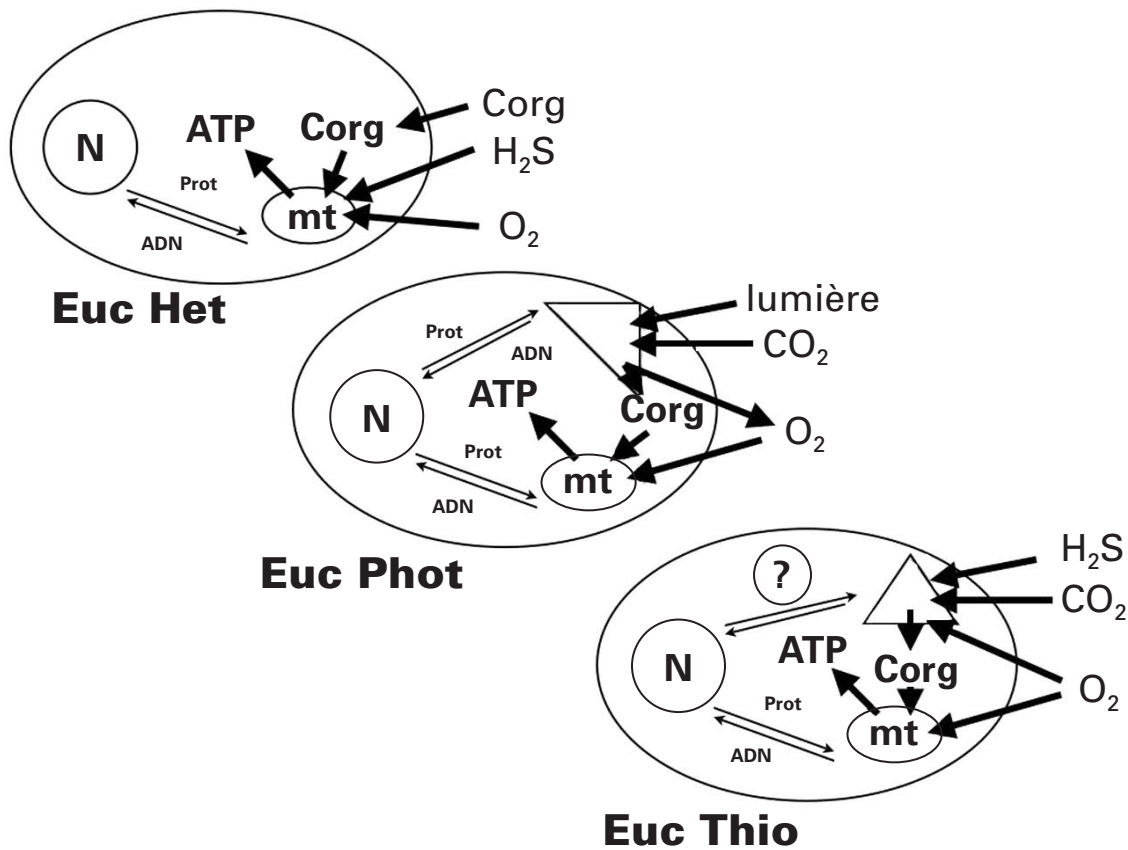


FIG. 5. – Représentation schématique des Eucaryotes hétérotrophes (Euc Het), phototrophes (Euc Phot) et thiotrophes (Euc Thio), ces derniers étant hypothétiques, représentés actuellement par des endosymbioses métazoaires –  $\gamma$ -protéobactéries. Les Eucaryotes hétérotrophes métabolisent le carbone organique (Corg) de manière aérobie grâce aux mitochondries (mt) pour former de l'ATP et certains d'entre eux sont aussi capables d'oxyder les sulfures ( $H_2S$ ) et d'en retirer un peu d'énergie (chimiohétérotrophie). Les Eucaryotes phototrophes peuvent assimiler le carbone inorganique ( $CO_2$ ) dans leurs chloroplastes  $\Delta$  à partir de l'énergie de la lumière, produisant du carbone organique et de l'oxygène nécessaire à leur métabolisme aérobie. Enfin, les Eucaryotes thiotrophes seraient capables d'assimiler le carbone inorganique grâce à l'énergie chimique résultant de l'oxydation des sulfures par des "thioplastes"  $\Delta$ , organites hypothétiques issus d'endosymbiotes. Mais si des transferts de gènes (ADN) et de protéines (Prot) ont bien eu lieu entre mitochondries, chloroplastes et noyau, cela reste à démontrer pour les Eucaryotes thiotrophes. Figure adaptée de Vetter (1991) et Lallier (2004). (Lallier, 2004 ; Vetter, 1991).

oxyder le carbone organique produit par les bactéries. Si l'on prend en compte le fait que les profondeurs de l'océan sont restées anoxiques jusqu'à une période récente, peut-être moins de 600 millions d'années (Anbar & Knoll, 2002) (Fig. 1), il n'est peut-être pas surprenant que les Eucaryotes thiotrophes n'aient pas encore vu le jour. D'autant que les endosymbioses primaires semblent être des phénomènes rares dans l'évolution, mitochondries et plastes étant issus d'évènements uniques. En d'autres termes on ne connaît pas d'autre endosymbiose primaire entre procaryote et eucaryote que les deux précédemment cités, à moins que leur évolution ne soit actuellement en cours à partir des différents exemples d'endosymbioses chimioautotrophes évoqués ci-dessus (Lallier, 2006). L'intégration la plus aboutie que nous connaissons aujourd'hui est sans doute *Calyptogenia*. Mais qu'est-ce qui différencie un endosymbiote à transmission verticale d'un organite ? L'une des caractéristiques de ces derniers est d'avoir un génome réduit, fruit de pertes de gènes et/ou de transferts vers le génome

nucléaire. Pour déceler un tel début il faudrait connaître le génome du symbiote de *Calyptogenia*. Ce qui est chose faite aujourd'hui (Newton *et al.*, 2007). Mais si le génome de cette bactérie est de taille modérée (1,2 Mb) il semble posséder un jeu de gènes complet. Les Eucaryotes thiotrophes ne seraient donc pas encore parmi nous.

**Remerciements.** – Les auteurs ont bénéficié du soutien financier de la Région Bretagne et de l'ANR DEEP OASES-06-BDIV-005-02.

## BIBLIOGRAPHIE

- Anbar A. D. & Knoll A. H., Proterozoic ocean chemistry and evolution: a bioinorganic bridge? *Science*, 2002, 297, 1137-1142.
- Bauer-Nebelsick M., Bardele C. F. & Ott J. A., Redescription of *Zoothamnium niveum* (Hemprich & Ehrenberg, 1831) Ehrenberg, 1838 (Oligohymenophora, Peritrichida), a ciliate with

- ectosymbiotic, chemoautotrophic bacteria. *Eur. J. Protistol.*, 1996, 32, 18-30.
- Bosch C. & Grassé P. P., Cycle partiel des bactéries chimioautotrophes symbiotiques et leurs rapports avec les bactériocytes chez *Riftia pachyptila* Jones (Pogonophore Vestimentifère). II. L'évolution des bactéries symbiotiques et des bactériocytes. *C. R. Acad. Sci. Paris (ser. III)*, 1984, 299, 413-419.
- Bright M. & Giere O., Microbial symbiosis in Annelida. *Symbiosis*, 2005, 38 (1), 1-45.
- Canfield D. E., The early history of atmospheric oxygen: homage to Robert M. Garrels. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 2005, 33, 1-36.
- Cary S. C. & Giovannoni S. J., Transovarial inheritance of endosymbiotic bacteria in clams inhabiting deep-sea hydrothermal vents and cold seeps. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993a, 90, 5695-5699.
- Catling D. C. & Claire M. W., How Earth's atmosphere evolved to an oxic state: a status report. *Earth and Planetary Science Letters*, 2005, 237, 1-20.
- Childress J. J., Fischer C. R., Favuzzi J. A., Kochevar R., Sanders N. K. & Alayse A. M., Sulfide-driven autotrophic balance in the bacterial symbiont-containing hydrothermal vent tube-worm, *Riftia pachyptila* Jones. *Biol. Bull.*, 1991, 180, 135-153.
- Colaco A., Dehairs F. & Desbruyères D., Nutritional relations of deep-sea hydrothermal fields at the Mid-Atlantic Ridge: a stable isotope approach. *Deep-Sea Res. Part I-Oceanogr. Res. Pap.*, 2002, 49, 395-412.
- Corliss J. B., Dymond J., Gordon L. I., Edmond J. M., Herzen R. P. V., Ballard R. D., Green K., Williams D., Bainbridge A., Crane K. & Van Andel T. H., Submarine thermal springs on the Galapagos rift. *Science*, 1979, 203, 1073-1083.
- De Bary H. A., *Die Erscheinung der Symbiose*. 1879 : Strassburg, 30 p.
- Delaney J. R., Kelley D. S., Lilley M. D., Butterfield P. A., Baross J. A., Wilcock W. S. D., Embley R. W. & Summit M., The quantum event of oceanic crustal accretion: impacts of diking at Mid-Ocean Ridges. *Science*, 1998, 281, 222-230.
- Desbruyères D., Chevaldonné P., Alayse A.-M., Jollivet D., Lallier F. H., Jouin-Toulmond C., Zal F., Sarradin P.-M., Cosson R., Caprais J.-C., Arndt C., O'Brien J., Guezennec J., Hourdez S., Riso R., Gaill F., Laubier L. & Toulmond A., Biology and ecology of the Pompei worm (*Alvinella pompejana* Desbruyères and Laubier), a normal dweller on an extreme deep-sea environment: a synthesis of current knowledge and recent developments. *Deep-Sea Research Part II*, 1998, 45, 383-422.
- Desbruyères D., Segonzac M. & Bright M., *Handbook of deep-sea hydrothermal vent fauna*. 2006, Biologiezentrum der Oberösterreichischen Landesmuseen : Linz-Dornach, Austria, 544 p.
- Dufour S. C., Gill anatomy and the evolution of symbiosis in the bivalve family Thyasiridae. *Biol. Bull.*, 2005, 208, 200-212.
- Dufour S. C. & Felbeck H., Sulphide mining by the superextensive foot of symbiotic thyasirid bivalves. *Nature*, 2003, 426, 65-67.
- Duperron S., Bergin C., Zielinski F., Blazejak A., Perenthaler A., Mckiness Z. P., Dechaine E., Cavanaugh C. M. & Dubilier N., A dual symbiosis shared by two mussel species, *Bathymodiulus azoricus* and *Bathymodiulus puteoserpentis* (Bivalvia: Mytilidae), from hydrothermal vents along the northern Mid-Atlantic Ridge. *Environ. Microbiol.*, 2006, 8, 1441-1447.
- Embley T. M. & Martin W., Eukaryotic evolution, changes and challenges. *Nature*, 2006, 440, 623-630.
- Feldman R. A., Black M. B., Cary C. S., Lutz R. A. & Vrijenhoek R. C., Molecular phylogenetics of bacterial endosymbionts and their vestimentiferan hosts. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1997, 6, 268-277.
- Fiala-Médioni A., Mckiness Z. P., Dando P., Boulegue J., Mariotti A., Alayse-Danet A. M., Robinson J. J. & Cavanaugh C. M., Ultrastructural, biochemical, and immunological characterization of two populations of the mytilid mussel *Bathymodiulus azoricus* from the Mid-Atlantic Ridge: evidence for a dual symbiosis. *Mar. Biol.*, 2002, 141, 1035-1043.
- Freytag J. K., Girguis P. R., Bergquist D. C., Andras J. P., Childress J. J. & Fisher C. R., A paradox resolved: sulfide acquisition by roots of seep tubeworms sustains net chemoautotrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98, 13408-13413.
- Hurtado L. A., Mateos M., Lutz R. A. & Vrijenhoek R. C., Coupling of bacterial endosymbiont and host mitochondrial genomes in the hydrothermal vent clam *Calyptogena magnifica*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69, 2058-2064.
- Karl D. M., Wirsen C. O. & Jannasch H. W., Deep-sea primary productivity at the Galapagos hydrothermal vents. *Science*, 1980, 207, 1345-1347.
- Lallier F. H., Oxygène et sulfure d'hydrogène : deux frères ennemis? *Océanis*, 2004, 30, 293-310.
- Lallier F. H., Thioautotrophic symbiosis: towards a new step in eukaryote evolution? *Cahiers de Biologie Marine*, 2006, 47, 391-396.
- Newton I. L. G., Woyke T., Auchtung T. A., Dilly G. F., Dutton R. J., Fisher M. C., Fontanez K. M., Lau E., Stewart F. J., Richardson P. M., Barry K. W., Saunders E., Dettler J. C., Wu D., Eisen J.A. & Cavanaugh C.M., The *Calyptogena magnifica* chemoautotrophic symbiont genome. *Science*, 2007, 315, 998-1000.
- Nussbaumer A. D., Fisher C. R. & Bright M., Horizontal endosymbiont transmission in hydrothermal vent tubeworms. *Nature*, 2006, 441, 345-348.
- Ott J. & Bright M., Sessile ciliates with bacterial ectosymbionts from twin cays, Belize. *Atoll Res. Bull.*, 2004, 516
- Ott J., Bright M. & Bulgheresi S., Marine Microbial Thiotrophic Ectosymbioses. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 2004, 42, 95-118.
- Page H. M., Fiala-Medioni A., Fisher C. R. & Childress J. J., Experimental evidence for filter-feeding by the hydrothermal vent mussel, *Bathymodiulus thermophilus*. *Deep-Sea Res. I*, 1991, 38, 1455-1461.
- Poole A. M. & Penny D., Evaluating hypotheses for the origin of eukaryotes. *BioEssays*, 2007, 29, 74-84.
- Prieur D., Benbouzid-Rollet N., Chamroux S., Durand P., Erauso G., Jacq E., Jeanthon C. & Mevel G., Distribution de divers types métaboliques bactériens sur un site hydrothermal profond (dorsale du pacifique oriental à 13° N). *Cah. Biol. Mar.*, 1989, 30, 515-530.
- Shank T. M., Fornari D. J., Von Damm K. L., Lilley M. D., Haymon R. M. & Lutz R. A., Temporal and spatial patterns of biological community development at nascent deep-sea hydrothermal vents (9° 50' N, East Pacific Rise). *Deep-Sea Res. II*, 1998, 45, 465-515.
- Sibuet M. & Olu K., Biogeography, biodiversity and fluid dependence of deep-sea cold-seep communities at active and passive margins. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 1998, 45, 517-567.
- Smith C.R. & Baco A.R., Ecology of whale falls at the deep-sea floor. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review*, 2003, 41, 311-354.
- Stewart F. J., Newton I. L. G. & Cavanaugh C. M., Chemosynthetic endosymbioses: adaptations to oxic-anoxic interfaces. *Trends in Microbiology*, 2005, 13, 439-448.
- Tunnicliffe V., The biology of hydrothermal vents – Ecology and evolution. *Oceanography and Marine Biology*, 1991, 29, 319-407.
- Urakawa H., Dubilier N., Fujiwara Y., Cunningham D. E., Kojima S. & Stahl D. A., Hydrothermal vent gastropods from the same

- family (Provannidae) harbour  $\epsilon$ - and  $\gamma$ -proteobacterial endosymbionts. *Environ. Microbiol.*, 2005, 7, 750-754.
- Vellai T. & Vida G., The origin of eukaryotes: the difference between prokaryotic and eukaryotic cells. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 1999, 266, 1571-1571.
- Vetter R. D., Symbiosis and the evolution of novel trophic strategies: thiotrophic organisms at hydrothermal vents. In: *Symbiosis as a source of evolutionary innovation: speciation and morphogenesis* (Margulis L., Fester R., eds), 1991, pp. 219-245. MIT Press: Cambridge, MA.
- Won Y.-J., Hallam S. J., O'mullan G. D., Pan I. L., Buck K. R. & Vrijenhoek R. C., Environmental acquisition of thiotrophic endosymbionts by deep-sea mussels of the genus *Bathymodiolus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69, 6785-6792.
- Woyke T., Teeling H., Ivanova N. N., Huntemann M., Richter M., Gloeckner F. O., Boffelli D., Anderson I. J., Barry K. W., Shapiro H. J., Szeto E., Kyrpides N. C., Musmann M., Amann R., Bergin C., Ruehland C., Rubin E. M. & Dubilier N., Symbiosis insights through metagenomic analysis of a microbial consortium. *Nature*, 2006, 443, 950-955.
-