
TITRE

Influence des communautés microbiennes sur la mobilité de l'uranium en conditions réductrices : expérimentations de laboratoire versus tests *in situ*

Intitulé en anglais : Influence of microbial communities on the migration of uranium in reducing conditions: laboratory experiments versus field conditions

ENCADREMENT/CONTACT

Laboratoire d'accueil du doctorant : Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux -UMR 7360 CNRS - Université de Lorraine

Nom et adresse : Campus Bridoux, Bât. IBISE, 8 rue du Général Delestraint, 57070 METZ, FRANCE

Nom et coordonnées du responsable : Pascale Bauda - Tél : 03 87 37 85 13

E-mail : pascale.bauda(@)univ-lorraine.fr

Profil du candidat :

Masters préconisés (Biogéochimie, Sciences de la Terre, Environnement, Ecologie Microbienne, Chimie de l'environnement)

Compétences souhaitées Microbiologie, Ecologie Microbienne, Sciences de la Terre, Environnement, Chimie de l'environnement

Elément de contexte

La mise en place de filières de gestion pour les sols et les sédiments contaminés en uranium issus de l'environnement des anciens sites miniers d'uranium, de l'assainissement final des installations de l'amont du cycle ou de certaines installations du cycle défense, constitue un enjeu majeur pour la réhabilitation des sites concernés. Compte tenu de leurs activités massiques en uranium, ces sols et sédiments relèvent normalement de la catégorie des déchets de très faible activité à vie longue (déchets TFA) qui ont vocation à être stockés dans le centre industriel de regroupement, d'entreposage et de stockage (Cires) exploité par l'Andra. Ce site n'est cependant pas dimensionné pour accueillir les sols et sédiments contaminés par de l'uranium. Des solutions alternatives doivent donc être recherchées pour le stockage de ces sols et sédiments. Ce sujet est d'ailleurs identifié comme une problématique centrale du plan national de gestion des matières et déchets radioactifs (PNGMDR) 2016-2018. Quelles que soient les solutions alternatives envisagées, celles-ci devront être testées à l'aide d'outils numériques permettant de simuler le comportement de l'uranium à long terme dans les sols et les sédiments. Or, si des outils de ce type existent d'ores et déjà, ils nécessitent d'être améliorés pour prendre en compte certains mécanismes physiques, chimiques et biologiques susceptibles de modifier la spéciation de l'uranium et ainsi de favoriser ou, à l'inverse, de limiter sa mobilité.

Etat de l'Art

Pour ce qui concerne les « mécanismes biologiques », on relève par exemple que les cellules microbiennes s'adaptent à leur environnement pour se développer et survivre en assimilant des composés inorganiques comme les métaux et les radionucléides. Par ailleurs, ces communautés microbiennes se protègent contre des composés toxiques comme l'uranium à travers différents processus comme la biosorption à la surface des cellules [7], la précipitation de minéraux [8],... Certains de ces mécanismes, notamment bactériens, conduisant à la réduction des espèces solubles de l'U(VI) en espèces moins solubles de l'U(IV), sont d'ailleurs fréquemment utilisés pour la remédiation de sites contaminés par de l'uranium [9]. Actuellement, plus de 25 espèces bactériennes sont connues pour être impliquées dans la réduction de l'uranium [10]. Parmi elles, trois souches *Shewanella oneidensis* MR1, *Desulfotomaculum reducens* MI-1 et *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 ont démontré leur capacité à produire de l'U(IV) moléculaire ([11], [12]) réputé peu mobile.

PROPOSITION DE SUJET DE THESE

L'étude de l'espèce *Shewanella oneidensis* MR1 a notamment montré que la production d'U(IV) moléculaire est favorisée en présence de solutés (sulfates, silicates, phosphates) et de faibles concentrations en U. Les auteurs attribuent la production d'U(IV) moléculaire à une « réponse biologique » à la présence de ces solutés au cours de la réduction [13]. A l'inverse, d'autres auteurs proposent des mécanismes indirects de réduction de l'uranium (par voie abiotique) comme la réduction de l'U(VI) par le Fe(II) (exemple de la mackinawite FeS) ([13]-[15]). Dans ce cas, les communautés bactériennes pourraient intervenir en tant que sites de sorption pour l'U(IV).

Malgré toutes les connaissances acquises, l'origine « biologique » de l'U(IV) moléculaire ne fait donc pas consensus. La finalité de la thèse envisagée est donc de clarifier le rôle joué par les communautés bactériennes dans la production de l'U(IV) moléculaire afin de le prendre en compte, le cas échéant, dans les modèles permettant de simuler la mobilité de l'uranium dans les sols et sédiments contaminés.

Objectifs de l'étude

L'objectif de ce travail de thèse est de comprendre l'influence des communautés bactériennes dans le piégeage de l'uranium, sous forme de complexes d'U(IV), dans les environnements de surface. Ces connaissances seront acquises à partir d'expériences de laboratoire sur des souches bactériennes modèles et prélevées dans des systèmes naturels comme les sédiments lacustres. Pour répondre à cet objectif, les conditions chimiques favorables à la réduction de l'uranium (voie biotique ou abiotique) ainsi que les bactéries associées à l'uranium seront identifiées. Enfin, si un métabolisme/mode de nutrition spécifique des communautés bactériennes est identifié dans la réduction de l'uranium, des essais d'isolement à partir des communautés bactériennes autochtones des sédiments seront effectués.

Déroulement de la thèse

1) Etude des processus de formation d'U(IV) moléculaire en présence d'une souche bactérienne modèle

Ce volet permettra de déterminer les mécanismes de production de l'U(IV) moléculaire en présence d'une souche bactérienne modèle vivante et morte de *Shewanella oneidensis* MR1. Le mode d'inactivation des bactéries sera choisi parmi les techniques suivantes (voie thermique, chimique ou par irradiation) et ce, en fonction des biais induits par ces différents traitements. Les facteurs suivants seront étudiés dans les expériences de laboratoire : température, densité cellulaire et présence ou non de donneurs d'électrons. Enfin, compte-tenu de son rôle important dans la réduction abiotique de l'uranium, la présence ou l'absence de Fe(II) sera particulièrement suivie dans ces expérimentations. Par ailleurs, il est régulièrement admis qu'au cours de la réaction biologique de réduction de l'U(VI) en U(IV), l'isotope 238 de l'uranium s'accumule préférentiellement plutôt que l'isotope 235 dans le produit final de la réaction [16]. Cette propriété sera utilisée pour essayer de déterminer le caractère biotique ou abiotique des réactions mises en jeu via des mesures du rapport isotopique U^{235}/U^{238} .

Si les résultats de ce premier volet apportent la démonstration que le mécanisme de réduction de l'U est d'origine abiotique et extracellulaire, les travaux de recherche seront orientés vers l'identification des structures et des fonctions impliquées dans la sorption de l'U(IV) sur la biomasse. Notamment, l'effort portera sur l'identification des molécules et structure biologiques aptes à sorber l'U(IV). Pour répondre à cet objectif, les capacités des parois cellulaires Gram(+) et Gram(-) et des phospholipides à sorber l'U(IV) seront comparées.

A l'inverse, si les résultats penchent en faveur d'un mécanisme de réduction d'origine biologique, les travaux de recherche seront dirigés vers l'identification des gènes et des protéines impliquées dans ce processus. Ces différentes connaissances permettront ensuite d'étudier l'abondance et l'expression de ce matériel biologique pour des communautés bactériennes rencontrées sur des sites réels. Cette approche sera développée sur 2 souches bactériennes modèles complètement séquencées : *Shewanella oneidensis* MR1 et *Desulfotomaculum reducens* MI-1 ([11], [12]). Les gènes exprimés seront analysés à l'aide de micro-arrays ou par la technique de séquençage de l'ARN, techniques maîtrisées au LIEC [17]. Une alternative à ces mesures pourrait être l'identification des protéines membranaires différenciellement produites par technologie HiTrack.

2) Identification du rôle des communautés microbiennes dans la formation d'U(IV) dans des sédiments naturels

En premier lieu, l'approche proposée sera de définir les conditions pour lesquelles la formation d'U(IV) moléculaire est favorisée dans les milieux naturels. Pour répondre à cet objectif, des communautés bactériennes autochtones seront prélevées dans des sédiments lacustres naturellement enrichis en uranium (exemple du Lac de Saint-Clément, région Auvergne [5]). Ces communautés seront ensuite conservées et

incubées en laboratoire en milieu anaérobie, en présence d'U(VI) et de différents donneurs d'électrons afin d'identifier leur rôle dans la formation de l'U(IV).

Dans un second temps, l'identification taxonomique des bactéries associées à l'uranium sera réalisée à l'aide de la technique couplée FISH-nano SIMS [18], technique disponible au Muséum National d'Histoire Naturelle ou au Luxembourg Institute of Science and Technology (LIST). Pour cela, le prélèvement de complexes organominéraux de petite taille (inférieure à la dizaine de microns) sera réalisé dans des sédiments anoxiques, où l'U(IV) moléculaire a été identifié (exemple de l'étude [5]).

Dans le cadre de toutes ces expériences de laboratoire, le suivi de la spéciation de l'U(IV) sera réalisé à l'aide d'extractions chimiques avec les bicarbonates ; cette méthode permet de déterminer les quantités d'U(IV) associées à l'uraninite et d'U(IV) monomérique [19]. En parallèle de ces mesures, la nature des formes chimiques de l'U(IV) moléculaire sera déterminée par Spectroscopie d'Absorption des Rayons X sur rayonnement synchrotron [12], pour confirmation sur les échantillons les plus stratégiques, en collaboration avec G. Morin (IMPIC).

Résultats attendus

Le résultat majeur de ce travail de thèse sera de confirmer ou d'infirmer l'origine biologique de l'uranium(IV) moléculaire dans les environnements anoxiques. Cette connaissance est fondamentale pour mieux comprendre les conditions favorables au piégeage de l'uranium sur le long-terme. Ces travaux seront directement utilisés dans les outils de prédiction nécessaire à la validation des stratégies de gestion des sols et sédiments contaminés en uranium.

L'étude des communautés bactériennes autochtones des sédiments enrichis en U(IV) pourrait également permettre d'isoler de nouvelles souches bactériennes modèles. Celles-ci permettraient d'augmenter les connaissances sur les stratégies de remédiation ; les processus de réduction de l'U(VI) en U(IV) étant couramment employés dans le monde pour traiter les sols contaminés par de l'uranium.

Collaborations

Ce projet fédère les compétences des laboratoires de recherche suivants :

- LIEC (Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux) - UMR 7360 CNRS,
- IMPIC (Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie) - UMR CNRS 7590,
- PRP-DGE/SRTG/LT2S.

Le doctorant choisi pourra bénéficier des installations suivantes dans le cadre de ce travail de thèse :

- Accès aux laboratoires du LIEC,
- Accès au nano-SIMS du Muséum National d'Histoire Naturelle,
- Accès aux laboratoires de l'IRSN pour des caractérisations chimiques (ICP-AES et ICP-MS, chromatographie ionique),
- Accès à des temps de faisceau en spectroscopie d'absorption des rayons X sur rayonnement synchrotron (ESRF Grenoble, SOLEIL),

Références bibliographiques des équipes proposant :

- [1] IRSN (2016) Déchets radioactifs de Très Faible Activité (TFA) : La doctrine doit-elle évoluer ? Rapport IRSN/DG/2016-00002.
- [2] ANDRA (2016) <http://www.inventaire.andra.fr/classification-dechets/51650>. Site internet consulté le 16/11/2016.
- [3] Mathews T, Beaugelin-Seiller, K., Garnier-Laplace, J., Gilbin, R., Adam, C., Della-Vedova, C. (2009) A probabilistic assessment of the chemical and radiological risks of chronic exposure to uranium in freshwater ecosystems. *Environmental Science and Technology*. 43:6684–6690
- [4] Wang, Y., Fruttschi, E., Suvorova, E., Buffat, V., Phommavanh, V., Descostes, M. (2013) Mobile uranium(IV)-bearing colloids in a mining-impact wetland. *Nature Communications*. 4, n°2942.
- [5] Morin, G., Mangeret, A., Othamne, G., Stetten, L., Seder-Colomina, M., Brest, J., Ona-Nguema, G., Bassot, S., Courbet, C., Guillevic, J., Thouvenot, A., Mathon, O., Proux, O., Bargar, J. (2016) Mononuclear U(IV) complexes and ningyosite as major uranium species in lake sediments. *Geochemical Perspectives Letters*. 2, 95-105.
- [6] IRSN (2016) Manifestation d'intérêt pour une thèse IRSN – Modélisation thermodynamique de la sorption de l'uranium sur des surfaces minérales modèle en conditions réductrices. Novembre 2016.
- [7] Merroun, M/L, Raff, J., Rossberg, A., Hennig, C., Reich, T., Selenska-Pobell, S. (2005) Complexation of uranium by cells and S-layers sheets of *Bacillus sphaericus* JG-A12. *Applied and Environmental Microbiology*. 71, 5542-5553.
- [8] Nedelkova, M., Merroun, M. L., Rossberg, A., Hennig, C., Selenska-Pobell, S., (2007) Microbacterium isolates from the vicinity of a radioactive waste depository and their interactions with uranium. *FEMS Microbiol. Ecol.* 59, 694-705.
- [9] Lovley, D. R., Philips, E. J. P., Gorby, Y. A., Landa, E. R. (1991) Microbial reduction of uranium. *Nature*. 350, 413-416.
- [10] Suzuki, Y., SUko, T. (2006) Geomicrobiological factors that control uranium mobility in the environment: update on recent advances in the bioremediation of uranium-contaminated sites. *Journal of Mineralogical and Petrological Sciences*. 101, 299-307.

- [11] Heideberg et al. (2002) Genome sequence of the dissimilatory metal ion-reducing bacterium *Shewanella oneidensis*. *Nature Biotechnology*. 20, 1118-1123.
- [12] Tebo, B. M., Obraztsova, A. Y. (1998) Sulfate-reducing bacterium grows with Cr(VI), U(VI), Mn(IV), and Fe(III) as electron acceptors. *FEMS Microbiology Letters*. 162, 193-198.
- [13] Stylo, M., Alessi, D. S., Shao, P. P. Y., Lezama-Pacheco, J. S., Bargar, J. R., Bernier-Latmani, R. (2013) Biogeochemical controls on the product of microbial U(VI) reduction. *Environmental Science and Technology*. 47, 12351-12358.
- [14] O'Loughlin, J., Kelly, S. D., Kemner, K. M. (2010) XAFS investigation of the interactions of UVI with secondary mineralization products from the bioreduction of FeIII oxides. *Environmental Science and Technology*. 44, 1656-1661.
- [15] Veeramani, H., Alessi, D. S., Suvorova, E. I., Lezama-Pacheco, J. S., Stubbs, J. E., Sharp, J. O., Dippon, U., Kappler, A., Bargar, J. R., Bernier-Latmani, R. (2011) Products of abiotic U(VI) reduction by biogenic magnetite and vivianite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 75, 2512-2528.
- [16] Stylo, M., Neubert, N., Wang, Y., Monga, N., Romaniello, S. J., Weyer, S., Bernier-Latmani, R. (2015) Uranium isotopes fingerprint biotic reduction. *Proceeding of the National Academy of Sciences of United States of America*. 112, 5619-5624.
- [17] Sohm, B., Immel, F., Bauda, P., Pagnout, C. (2015) Insight into the primary mode of action of TiO₂ nanoparticles on *Escherichia coli* in the dark. *Proteomics*. 15, 98-113.
- [18] Wagner, M. (2009) Single-cell ecophysiology of microbes as revealed by Raman microspectroscopy or secondary ion mass spectrometry imaging. *Ann Rev. Microbiol.* 63:411-429.
- [19] Alessi, D. S., Uster, B., Veeramani, H., Suvorova, E. I., Lezama-Pacheco, J. S., Stubbs, J. E., Bargar, J. R., Bernier-Latmani, R. (2012) Quantitative separation of monomeric U(IV) from UO₂ in products of U(VI) reduction. *Environmental Science and Technology*. 46, 6150-6157.

Pièce 3 : Références du directeur de thèse

Carrier

2005- Professor Université de Metz, Université de Lorraine since 2012, CNU section 65 Microbiology cellular biology.
1991- French Ability to direct research (HDR 1991, Université de Metz)
1989-Assistant Professor, Université de Metz
1986- PhD in Toxicology, Université de Metz (JC Block director).

Mobility

- Institut Pasteur, September -December 1993 Practical course of molecular microbiology (organized by the Molecular genetics Lab directed by Maxime Schwartz.
- Mobility Montréal, Qc, Canada (1998-2002). Senior researcher PhageTech company (now Targanta SA).

Key words : microbiology, molecular biology , microbial ecology, metals, metalloïds, detoxification, nanoparticules.

Main scientific and administrative responsibilities:

- Member of the Scientific Council Université de Metz (2008-12)
- Member of the Scientific Council of the national concerted action on Legionelles AFSSET (2003-08)
- Member of the Scientific Council of ACI EC2CO cytrix (CNRS INSU)
- Joint Director of the laboratory UMR 7146 CNRS-Université de Metz (2007-2010)
- Director of the laboratory UMR 7146 CNRS –Université de Metz (2011-2012)
- Member of CNRS National Comite sections 20 et CID46 mandat 2004-2008
- President of section 20 (now section 30) (continental surfaces and interfaces) National Comite 2008-2012
- Member of GDR 2909 : métabolisme de l'arsenic chez les procaryotes, et du GDRI : International Consortium for the Environmental Impact of NanoTechnologies (iCEINT).
- Member of the ANR evaluation comite programs Blanc and JCJC 2012 (SVS E3 et SVSE7)
- Joint Director of the laboratory UMR 7360 LIEC CNRS-Université de Lorraine since 2013
- Member of the Scientific Council of the Université de Lorraine since 2012
- Membre du bureau directeur de l'Observatoire Hommes-Milieus (OHM) Pays de Bitches
- Member of the Scientific Council of the ACI EC2CO Microbien (CNRS INSU) since 2015
- Microbial ecology Team Responsible of LIEC UMR CNRS 7360

Indicators

- 56 publications google scholar, 1044 citations
- 1 brevet US.
- Editor of a special issue “Metals and Microorganisms : relationships and applications” *FEMS Microbiology Reviews*, 1994
- 7 books chapters
- 4 congress actes
- 52 participations to national and international scientific congress
- 30 invited conferences
- co-responsible of 3 scientific prospective actions for the CNRS
- participation to 6 AERES Laboratory evaluation comities
- 10 scientific project responsibilities, 5 with industrial partnership
- 9 PhD thesis directions/co-directions, and 1 on going
- Participation to 28 PhD thesis defense, 4 participation to HDR defense jury

Pièce 3 : Moyens techniques et financiers¹

Pour la réalisation de la thèse, merci de décrire-le cas échéant- les partenaires avec lesquels l'IRSN devra signer un accord de collaboration.

Merci de décrire les moyens techniques importants mis en œuvre chez les différents partenaires.

Si des flux financiers doivent être mis entre l'IRSN et ces partenaires, préciser leurs natures (achat de matériel, fonctionnement, etc) et leurs montants approximatifs.

Description des moyens techniques importants :

- LIEC : dispositifs de cultures en anaérobiose, technologies omiques, zone contrôlée pour la manipulation de radio-éléments, plateau de microscopie électronique de l'école des mines de Nancy, ultracentrifugeuse, presse de French pour la préparation de parois bactériennes.
- IMPMC (rayonnement synchrotron)
- IRSN => utilisation de l'ICP-MS Triple-Quad (analyse de l'uranium dans les eaux), chromatographie ionique (acides organiques, propionate, acétates... ; anions : sulfates, nitrates...), spectrométrie gamma (uranium 238 et ses descendants), plate-forme de microscopie (MEB-EDXS, MET)

Flux financiers vers le LIEC et l'IMPMC => 15 000 euros par an sur 3 ans.

¹ Cette fiche est indépendante du reste du dossier. Elle est conservée par DSDP et ne sera pas communiquée à des tiers.

Pièce 4 : Fiche experts²

Afin d'aider la DSDP dans sa procédure d'évaluation, veuillez indiquer ci-dessous les noms et les coordonnées (adresse postale, courriel, téléphone) de 3 experts du domaine, susceptibles de donner un avis indépendant sur le sujet.

Critères concernant les experts :

- ils ne doivent pas appartenir à l'IRSN ;
- ils ne doivent pas être partie prenante de la thèse (tuteur, directeur, contractant impliqué dans son suivi...) ;
- deux d'entre eux ne doivent pas appartenir au même organisme.

NB :

- Les choix proposés n'engagent pas la DSDP, qui se réserve la possibilité de consulter d'autres experts.
- Si un des experts proposés ne lit pas le français, merci de l'indiquer et de joindre également une version en anglais du présent dossier.

Expert 1 :

Nom : Durand		Prénom : Béatrice
Organisme : IPREM (Institut des Sciences Analytiques et de Physico-chimie pour l'Environnement et les Matériaux)		
Adresse postale : Equipe Environnement et Microbiologie (EEM) - UMR IPREM 5254		
Université de Pau et des Pays de l'Adour - BP 1155 - 64013 Pau cedex		
Téléphone 05 59 40 79 65	Fax :	Courriel : beatrice.lauga@univ-pau.fr

Expert 2 :

Nom : PONS		Prénom : Marie-Noëlle
Organisme : Laboratoire Réactions et Génie des Procédés - UMR 7274 CNRS Université de Lorraine		
Adresse postale : LRGP - Laboratoire Réactions et Génie des Procédés - UMR 7274		
1 rue Grandville - BP 20451 - 54001 Nancy Cedex		
Téléphone : 03.83.17.52.77	Fax :	Courriel : marie-noelle.pons@univ-lorraine.fr

Expert 3 :

Nom : BRUNEEL		Prénom : Odile
Organisme : Laboratoire HydroSciences Montpellier		
Adresse postale : Laboratoire HydroSciences Montpellier - UMR 5569 CNRS/IRD/Université Montpellier		
300, avenue du Professeur Emile Jeanbrau 34090 Montpellier		
Téléphone : 04 67 14 90 71	Fax :	Courriel : odile.bruneel@ird.fr

² Cette fiche est indépendante du reste du dossier. Elle est conservée par DSDP et ne sera pas communiquée à des tiers.

1.1.1 PUBLICATION DU SUJET DE THESE

Merci de transmettre directement à DSDP/SPS, par mail et au format Word, ce présent formulaire (*PUBLICATION DU SUJET DE THESE*). Date limite d'envoi : 25 novembre.

Annonce sur :

Souhaitez-vous qu'une annonce de poste de thèse soit faite sur le site de l'ABG-L'intelli'agence) : oui

Description du poste à pourvoir (400 mots maxi, éviter le jargon technique, présenter l'enjeu, les différentes étapes)

Ce sujet de thèse vise à étudier l'influence des communautés microbiennes sur le piégeage de l'uranium dans les environnements de surface. Ces travaux de recherche vont comprendre l'étude des conditions favorables à ce piégeage en utilisant des souches bactériennes modèles et autochtones prélevées sur un site. Ces études vont nécessiter la réalisation d'expérimentations de laboratoire en conditions contrôlées sous atmosphère inerte et également l'utilisation de méthodes de caractérisation des formes chimiques de l'uranium dans la phase solide.

Profil du candidat (formation, compétences, restrictions) :

Compétences en écologie microbienne, chimie des actinides, caractérisation des phases solides

Transmission des candidatures (responsable, n°tél, adresse) :

Arnaud MANGERET – BP 17 – 92 262 Fontenay-aux-Roses cedex

Tel : 01-58-35-76-95

arnaud.mangeret@irsn.fr

Pascale Bauda – LIEC,

Tel : 03-87-37-85-13

Campus Bridoux - Bât. IBISE - 8, rue du Général Delestraint - 57070 METZ

pascale.bauda@univ-lorraine.fr

Lieu de travail (indiquer si plusieurs lieux, si déplacements fréquents) :

LIEC -Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux – Metz

IRSN – PRP-DGE/SRTG/LT2S Fontenay-aux-Roses

Domaines de compétences : 2 au choix parmi : « Mathématiques », « Physique », « Terre, univers, espace », « Chimie », « Biologie, médecine, santé », « Sciences humaines », « Sciences de la société », « Sciences pour l'ingénieur », « Informatique, électronique », « Agronomie », « Environnement ».

« Biologie, médecine, santé », « Environnement »