



**UNITÉ :** UMR 7156 - Génétique Moléculaire, Génomique et Microbiologie (GMGM), Institut de Botanique, 28, rue Goethe, 67083 STRASBOURG

#### **EQUIPE**

Intitulé de l'équipe : Adaptations et interactions microbiennes dans l'environnement

Responsable de l'équipe: VUILLEUMIER Stéphane

E-mail : vuilleumier@unistra.fr Téléphone : 03 68 85 20 22

Site web éventuel: http://gmgm.unistra.fr/index.php?id=3655

### COMPOSITION DE L'ÉQUIPE

Nombre de chercheurs : 3

Nombre de ITA: 2

Nombre de doctorants : 2 Nombre de post-docs : 0

Autres: 0

#### CONCERNANT LA THÈSE

Nom du Directeur de thèse : Vuilleumier Stéphane Mail du Directeur de thèse : vuilleumier@unistra.fr

Téléphone: 03 68 85 20 22 Thèse en co-encadrement OUI Thèse en co-direction NON Thèse en co-tutelle NON

Nombre de thèses en cours pour le Directeur de thèse : 1 thèse en co-direction

En cas de co-direction, co-encadrement ou co-tutelle :

Nom des co-encadrantes : Catherine Joulian (c.joulian@brgm.fr) et Jennifer Hellal (j.hellal@brgm.fr)

Université des co-encadrantes : Bureau des Ressources Géologiques et Minières, BRGM

Nombre de thèses en cours pour les co-encadrantes : 0

### THÈSE(S) EN COURS POUR LE DIRECTEUR DE THÈSE

Nombre de thèses en cours : 1 Pour chaque doctorant en cours :

Nom : Azzam Elsayed Prénom : Omniea

Début de la thèse : Février 2011 Fin prévisionnelle : Janvier 2015

## DOCTEURS ISSUS DE L'ÉQUIPE (durant les 5 dernières années)

Nombre de docteurs issus de l'équipe (max 3) :

Nom du docteur : FARHAN UL HAQUE

Prénom du docteur : Muhammad Date de soutenance : Mai 2013

Situation actuelle: Chercheur postdoctoral, Université du Michigan, USA

Nom du docteur : MULLER Prénom du docteur : Emilie Date de soutenance : Mars 2011

Situation actuelle : Chercheuse postdoctorale, Université du Luxembourg

### CONCERNANT LE SUJET PROPOSÉ

**Titre :** (max 190 caractères, espaces compris)

Diagnostic microbiologique de sites pollués (BTEX, organochlorés) et validation de bioindicateurs pour l'évaluation du potentiel de biodégradation

**Projet :** (max 3990 caractères espaces compris, pas de caractères spéciaux)

Le compartiment microbien répond aux modifications de son environnement et peut ainsi apporter des renseignements sur l'état fonctionnel de l'écosystème dont il fait partie et, en milieu pollué, sur la biodisponibilité, la toxicité et la biodégradabilité des polluants présents. Dans ce contexte, les travaux d'écotoxicologie microbienne pour l'évaluation des effets biologiques de contaminations chimiques connaissent aujourd'hui un développement important (cf. http://ecotoxicomic.irstea.fr). Classiquement, ceci implique l'étude de la réponse de souches bactériennes bioindicatrices à la présence de contaminants toxiques. Le séquençage de la microflore bactérienne permet également d'évaluer la structure des populations microbiennes et sa réponse à une contamination, et pourrait de ce fait représenter un bioindicateur nouveau pour l'évaluation de la toxicité associée à la pollution (Imfeld et Vuilleumier, 2012). Bien qu'apportant des éléments complémentaires aux diagnostics de sites classiques basés sur la chimie analytique, l'application de marqueurs moléculaires microbiens sur sites pollués reste toutefois encore anecdotique en France, bien que plusieurs études récentes, dont le programme Bioindicateurs II de l'ADEME (2009-2012), en démontrent la pertinence.

Ce projet de thèse sera focalisé sur des polluants organiques chlorés de type BTEX, haloalcènes et haloalcanes. Ces composés largement répandus dans l'environnement sont souvent toxiques et écotoxiques, dans certains cas classés comme cancérigènes pour l'homme, et sont souvent retrouvés en pollution mixte sur un même site. De nombreux travaux ont démontré le rôle de bactéries et de gènes spécifiques dans la dégradation de ces molécules. Pour certaines, des indicateurs de potentiel de dégradation ou d'atténuation sont déjà disponibles, mais pour d'autres telles que le 1,2-DCA et d'autres composés organohalogénés rencontrés sur sites pollués, les connaissances sur les gènes et les enzymes impliqués dans leur dégradation nécessitent une validation plus approfondie en vue d'une utilisation comme biomarqueurs pour la remédiation.

Les objectifs principaux du projet de thèse sont :

- l'inventaire des gènes biomarqueurs spécifiques connus en vue d'une application sur site : leur périmètre d'application, leurs avantages et inconvénients
- le développement et l'application de biomarqueurs géniques et écotoxicologiques et de bioindicateurs microbiens globaux dans le suivi de pollutions mixtes (organochlorés, BTEX)
- une évaluation de la corrélation entre les réponses des bioindicateurs et les teneurs en polluants
- la proposition d'un panel de bioindicateurs applicable en pratique aux gestionnaires de sites pollués Le projet de thèse comprendra les volets suivants :
- 1. Etat de l'art et identification de bioindicateurs pertinents
- 2. Etudes de microcosmes bactériens soumis à des pollutions mixtes et développement, optimisation et

validation de biomarqueurs spécifiques

3. Application des biomarqueurs en situation réelle pour le diagnostic et le suivi de sites contaminés Stéphane Vuilleumier, professeur à l'UdS et responsable d'équipe CNRS, a dirigé 10 thèses sur la transformation microbienne des polluants halogénés. Il apporte au projet des compétences de microbiologie, de génomique et d'enzymologie sur les métabolismes de déchloration et de détoxication des composés halogénés, sur l'analyse des gènes de déshalogénases et des protéines et enzymes correspondantes, et sur les techniques de génotypage et de séquençage à haut-débit. Au BRGM, Catherine Joulian et Jennifer Hellal, microbiologistes spécialisées en écologie microbienne fortement impliquées dans des recherches sur les bioindicateurs avec l'ADEME, se partageront l'encadrement des aspects liés à mise en œuvre des microcosmes et au développement et à l'optimisation de biomarqueurs (BTEX notamment). Stéfan Colombano, ingénieur environnement senior, apportera son expertise sur les sites et sols pollués.

## Compétences souhaitées : (max 590 caractères, espaces et sauts de lignes compris)

- Master en sciences biologiques, ou à l'interface avec la chimie ou les sciences de l'environnement
- Bonnes connaissances en microbiologie et en biologie moléculaire ; connaissances de base en chimie analytique, en biochimie et en génomique
- Capacité de travailler en autonomie et en équipe
- Intérêt pour les questions environnementales
- Bonnes compétences de communication et de présentation écrite et orale
- Créativité
- Intérêt pour le développement de collaborations avec des partenaires industriels et académiques

## Expertises qui seront acquises au cours de la formation : (max 590 caractères, espaces et sauts de lignes compris)

- Suivi qualitatif et quantitatif de gènes biomarqueurs par PCR et qPCR en microcosmes et sur sites pollués
- Analyse bioinformatique et conception d'amorces PCR pour la détection et la quantification de nouveaux biomarqueurs
- Analyse des populations microbiennes en microcosmes et sur sites pollués par les approches de culture et culture indépendantes (séquençage haut-débit)
- Analytique chimique de polluants organiques par chromatographie gazeuse et liquide et spectrométrie de masse

**Mots-clés** (servira pour la consultation des sujets) : Bioremédiation, déchloration, génomique, écotoxicologie

## PUBLICATIONS MAJEURES DE L'ÉQUIPE RELATIVES AU SUJET AU COURS DES 3 DERNIÈRES ANNÉES. SI NOUVEAU SUJET SANS PUBLICATION, MERCI D'INDIQUER 3 PUBLICATIONS RÉCENTES DU DIRECTEUR DE THESE.

- 1) Michener J, Vuilleumier S, Bringel F, Marx CJ (2014) Phylogeny poorly predicts the utility of a challenging horizontally-transferred gene in *Methylobacterium* strains. J. Bacteriol. 196, 2101-2107.
- 2) Farhan Ul Haque M, Nadalig T, Bringel F, Schaller H, Vuilleumier S (2013) A fluorescence-based bacterial bioreporter for the specific detection of methyl halide emissions in the environment. Appl. Environ. Microbiol. 79, 6561-6567.
- 3) Imfeld G, Vuilleumier S (2012) Measuring the effects of pesticides on bacterial communities in soil: a critical review. Eur. J. Soil Biol. 49, 22-30 (citations: 14 (WoS Core Collection); 18 (Scopus); 25 (GoogleScholar)).

### CONTRATS DE L'ÉQUIPE

Marie Curie ITN CSI (2010-14), Interreg Biomasse (2012-14), Feder Elise (2012-14), INSU CNRS (TOP-

DCM 2013-14, METFORMET 2014-15)

Partie à rédiger en anglais :

**TOPIC** 

**Title:** (max 190 caractères, espaces compris)

Microbiological diagnosis of sites contaminated with BTEX and chlorinated organic pollutants and validation of bioindicators for the evaluation of on-site microbial biodegradation potential

**Project:** (max 3990 caractères espaces compris, pas de caractères spéciaux)

The microbial compartment responds to changes in its environment and thereby informs on the functional status of the ecosystem it is part of, and on the bioavailability, toxicity and biodegradability of pollutants. In this context, microbial ecotoxicology investigations are being significantly developed in order to assess the biological effects of chemical contaminants (cf. http://ecotoxicomic.irstea.fr). Classically, this involves investigations of the response of bacterial bioindicator strains to toxic contaminants. Sequencing of the bacterial microflora also allows to determine the structure of microbial populations and its response to chemical contamination, and could thus represent a novel type of bioindicator to evaluate the toxicity associated with pollution (Imfeld and Vuilleumier, 2012). Although it affords complementary information to classical diagnosis of polluted sites based on analytical chemistry, the application of microbial molecular markers in polluted sites nevertheless still remains anecdotical in France despite the fact that several recent studies and programs, among which the ADEME Bioindicateurs II program (2009-2012), demonstrated its relevance and usefulness.

This PhD thesis project will be focussed on chlorinated organic pollutants (BTEX, haloalkenes and haloalkanes). These environmentally ubiquitous compounds are often toxic and ecotoxic, in some cases carcinogenic to humans, and often found as part of mixed chemical contaminations on a given site. Numerous studies have shown the role of specific bacteria and genes in the degradation of such molecules. For some of them, indicators of the degradation or attenuation potential are already available; for others such as 1,2-DCA and other organohalogens found on polluted sites, available knowledge ont the genes and corresponding enzymes involved in degradation require further study in the perspective of their application as biomarkers of remediation.

The main objectives of the PhD project are:

- the development and application of specific genetic and ecotoxicological biomarkers and of global microbial bioindicators in the follow-up of mixed contaminations (organochlorinated compounds, BTEX)
- an assessment of the correlation between bioindicator responses and pollutant concentrations
- the inventory of known specific biomarker genes for remediation: their application range, advantages and drawbacks
- the definition of a panel of bioindicators that can be applied in practice for managers of polluted sites The PhD project will develop the following aspects:
- 1. State of the art and identification of relevant bioindicators
- 2. Bacterial microcosm studies under conditions of mixed pollution and development, optimisation and validation of specific biomarkers
- 3. Application and validation of biomarkers under on-site conditions for diagnosis and follow-up of contaminated sites

Stéphane Vuilleumier, Professor at UdS and CNRS group leader, has supervised 10 PhD theses on the microbial transformation of halogenated pollutants. He brings the project know-how in microbiology, genomics and enzymology on the dechlorination and detoxification metabolism of organohalogenated compounds under anaerobic and aerobic conditions, on the analysis of dehalogenase genes and of the corresponding proteins and enzymes, and on genotyping and high-throughput sequencing approaches. At BRGM, Catherine Joulian and Jennifer Hellal, microbiologists specialising in microbial ecology and strongly involved in investigations on bioindicators with ADEME, will share supervision of aspects associated with the implementation of microcosm experiments and the development and optimisation of biomarkers (BTEX in particular). Stéfan Colombano, senior engineer in environmental sciences, will

bring his expertise on polluted sites.

**Wished skills:** (max 590 caractères, espaces et sauts de lignes compris)

- Master in Biological Sciences, or at the interface of biology and chemistry or environmental sciences
- Good knowledge of microbiology and molecular biology ; basic knowledge in analytic chemistry, biochemistry and genomics
- Ability to work independently and to participate in team efforts
- Strong interest for environmental questions
- Good oral / written communication and presentation skills
- Creativity
- Interest to develop collaborations with partners from both industry and academia

## Expertises which will be acquired during the training: (max 590 caractères, espaces et sauts de lignes compris)

- Analysis of microbial population in microcosms and polluted sites by cultivation and culture-independent approaches (high-throughput sequencing)
- Qualitative and quantitative assessment of biomarker genes by PCR and qPCR in microcosms and polluted sites
- Bioinformatic analysis and design of PCR primers for the detection and quantification of new biomarkers
- Analytical chemical analysis of organic pollutants by liquid and gas chromatography and mass spectrometry

### **Keywords:**

Bioremediation, dechlorination, genomics, ecotoxicology

Commentaires éventuels pour l'Ecole Doctorale (max 590 caractères, espaces et sauts de lignes compris)

Sujet soumis à l'ADEME le 1<sup>er</sup> avril 2014 (co-financement BRGM acquis)

Décision de co-financement par l'ADEME le 4 juillet 2014

Soutenance M2S4 du candidat le 10 juillet 2014, en attente des résultats finaux