



Proposition de contrat doctoral

Rôle des sidérophores bactériens dans les processus biogéochimiques contrôlant la mobilité des métaux dans le sol et leur transfert vers la plante

Laboratoire : Laboratoire de Planétologie et Géodynamique (Nantes-Angers), UMR 6112 CNRS

Durée : 3 ans (bourse Région des Pays de la Loire)

Localisation principale du post-doctorant : Nantes

Contexte : cette thèse s'inscrit dans le cadre du projet régional POLLUSOLS (pollution des sols : de la compréhension à la gestion durable des espaces)

Contexte et problématique scientifique

La présence de métaux dans les sols et sédiments, lors de pollutions diffuses, pose la question de leur transfert dans l'environnement, des risques de contamination des chaînes trophiques et, le cas échéant, des moyens d'y remédier. Les transferts de métaux sont contrôlés à la fois par des facteurs abiotiques (% d'argile et de matières organiques, pH, Eh, force ionique, etc) et biotiques, notamment la composante microbienne qui joue un rôle central dans la mobilisation/immobilisation des éléments traces dans les matrices poreuses (Gadd 2010).

Le projet se focalise sur les complexants d'origine microbienne, en particulier les sidérophores, pour leurs capacités à modifier la mobilité des métaux dans les sols (Braud et al. 2009, Cornu et al. 2014, Ferret et al. 2014, Hazotte et al. 2016, Hoegy et al. 2009). Les constantes d'affinité de l'un d'eux, la pyoverdine, produite par les bactéries du genre *Pseudomonas*, sont connues pour être très élevées pour le Fe(III) (10^{32} M^{-1} , Albrecht-Gary et al. 1994), et non négligeables pour le Cu(II), le Ni(II) et le Pb(II) (Ferret et al. 2014, Cornu et al. 2014, données non publiées pour le Pb). D'autres sidérophores plus couramment étudiés, telle la desferrioxamine B (DFOB), présentent également des capacités de complexation intéressantes (Cornu et al. 2017) vis-à-vis des métaux traces.

Objectifs et descriptif de la thèse

L'objectif général porte sur la compréhension de la mobilité et de la phytodisponibilité des métaux dans les sols sous l'effet des sidérophores bactériens.

Le projet comporte **deux volets** complémentaires.

Description du volet 1 :

Ce volet porte sur l'étude *in situ* des activités de complexation des métaux par les sidérophores microbiens dans les sols. A ce jour, ces activités sont généralement étudiées *ex situ*, en conditions de laboratoire, et dans des conditions parfois très éloignées de la réalité (ex : activités potentielles de complexation mesurées en microplaques). Par ailleurs, les études ne tiennent pas compte de l'hétérogénéité de la distribution des activités complexantes dans l'environnement. Or, selon que les microorganismes sont présents dans la rhizosphère ou dans le sol environnant (« bulk soil »), mais aussi selon les variations spatiales de potentiel redox, de pH, etc, qui modulent fortement la disponibilité du fer, ces activités complexantes peuvent varier fortement avec une répercussion probable sur les transferts de métaux. Ce travail contribuera donc à cartographier la distribution des sidérophores bactériens dans différents sols et indirectement d'évaluer leur impact sur la dissémination des métaux dans l'environnement.

Depuis quelques années, le couplage de techniques colorimétriques avec des techniques de gel 2D permettent d'obtenir des cartes de distribution de certains éléments dissous dans les sédiments à des échelles submillimétriques (Jézéquel et al. 2007). Plus récemment, l'utilisation de caméras hyper spectrales pour l'acquisition des images a permis l'analyse simultanée de certains solutés comme le fer et le phosphore dissous (Cesbron et al. 2014) ainsi que le nitrite et le nitrate (Metzger et al. 2016).

Les points plus particulièrement abordés dans ce volet sont les suivants :

- i) Poursuivre le développement d'un gel 2D, permettant de révéler l'activité des sidérophores microbiens, en se basant sur le test colorimétrique universel CAS (Schwyn et Neilands 1987), et optimiser sa sensibilité ;
- ii) Tester la méthode en conditions réelles : les sidérophores naturellement présents dans les sols seront cartographiés, sur la base de situations contrastées (sols avec des disponibilités variées en fer, sols avec ou sans plantes, avec ou sans ajout de microorganismes producteurs de sidérophores) ;
- iii) Etablir une triple cartographie : celle des sidérophores du sol en utilisant le gel 2D précédemment développé, celle des métaux (totaux et dissous) et celle de la composante microbienne (biodiversité, suivi de populations spécifiques).

Description du volet 2 :

La production bactérienne de sidérophore est souvent présentée comme une alternative à l'ajout de chélatant de synthèse pour accélérer la phytoextraction de métaux dans les sols contaminés. La question au cœur de ce deuxième volet est de savoir si les métaux traces mobilisés par les sidérophores bactériens sont disponibles pour le prélèvement végétal et, si oui, par quel(s) mécanisme(s). Les données de la littérature à ce sujet ne font clairement pas consensus, notamment parce que très peu d'approches « mécanistiques » ont été menés spécifiquement sur les sidérophores.

La théorie de l'ion libre impose que les métaux (comme tout nutriment) soient prélevés sous leur forme ionique libre par la racine. Sous cette hypothèse, les complexes sidérophore-métaux présents en solution de sol ne sont pas directement prélevés par la plante et leur participation au prélèvement est liée à leur capacité à se dissocier aux abords de la racine. La labilité des complexes sidérophores-métaux serait donc une composante essentielle de leur phytodisponibilité. A l'instar des travaux menés sur les chélatants de synthèse (EDTA

notamment), on suspecte toutefois qu'un prélèvement direct des complexes sidérophores-métaux serait possible, notamment par la voie apoplasmique.

Ce deuxième volet vise donc, à l'aide d'approches spécifiques (de traçage notamment), à mettre en évidence la participation (ou non) des complexes sidérophore-métaux au prélèvement végétal. Une série d'expérimentations hydroponiques seront menées, pour certaines en présence d'un métal voire d'un sidérophore marqué, afin de répondre aux questions suivantes :

- Le complexe sidérophore-métal participe-t-il au prélèvement ?
- Si oui, est-il prélevé de manière intact (*i.e.*, non dissocié) par la racine ?
- La réponse aux deux premières questions dépend-elle du métal, de la plante et/ou de la concentration du complexe sidérophore-métal en solution ?

Pour ce volet, le sidérophore pyoverdine sera étudié en priorité. Son impact sur le prélèvement végétal des métaux sera comparé à celui d'autres complexants, synthétiques (EDTA, NTA) ou non (DFOB, citrate).

Formation, compétences et expériences requises :

- Bac +5 (avec minimum mention Bien en master). **NB : un bulletin de notes provisoire peut être présenté ;**
- Compétences principales en biogéochimie et pédologie (pollutions inorganiques) ; et si possible en microbiologie (approuvés par des stages significatifs) ;
- Goût pour la mise au point de systèmes expérimentaux (nécessitant d'être minutieux) ; esprit curieux ; capacité à interagir avec plusieurs laboratoires et co-encadrants ; capacités rédactionnelles ;
- Minutie et rigueur.

Salaire et durée du contrat :

1769 € brut mensuel (environ 1 424 € net).

Contrat de 3 ans.

- **Candidature à adresser à :** Thierry Lebeau, Professeur LPG-Nantes (thierry.lebeau@univ-nantes.fr)
- **Date limite pour candidater :** 18 juin
- **Auditions :** 10 juillet

Références citées :

Albrecht-Gary A. M., Blanc S., Rochel N., Ocacktan A. Z., Abdallah M. A. (1994). Bacterial iron transport: coordination properties of pyoverdin PaA, a peptidic siderophore of *Pseudomonas aeruginosa*. *Inorganic Chemistry* **33**, 6391-6402

Braud A., Jézéquel K., Bazot S., Lebeau T. (2009). Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr-, Hg- and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore-producing bacteria. *Chemosphere*, **74**, 280-286.

Cesbron, F., Metzger, E., Launeau, P., Deflandre, B., Delgard, M.-L., Thibault de Chanvalon, A., Geslin, E., Anschutz, P., Jézéquel, D. (2014). Simultaneous 2D Imaging of Dissolved Iron and Reactive Phosphorus in Sediment Porewaters by Thin-Film and Hyperspectral Methods. *Environmental Science & Technology*. **48**, 2816-2826.

- Cornu, J.Y., Ferret C., Elhabiri M., Lollier M., Geoffroy V.A., Jezequel K., Lebeau T. (2014). Pyoverdine promotes the mobilisation and the phytoextraction of Cu in calcareous sediment. *Chemosphere*, **103**, 212-219.
- Cornu J.Y., Dépernet C., Garnier C., Lenoble V., Lebeau T., Braud A. (2017). How do low doses of desferrioxamine B and EDTA affect the phytoextraction of metals by sunflower? *Science of the Total Environment*. Sous presse.
- Ferret C., Sterckeman T., Cornu J.Y., Gangloff S., Schalk I.J., Geoffroy V.A. (2014) Siderophore-promoted dissolution of smectite by fluorescent *Pseudomonas*. *Environmental Microbiology Reports* **6**, 459-467.
- Gadd G.M. (2010). Metals, minerals and microbes: Geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology* **156**, 609-643.
- Hazotte A.A., Péron O., Abdelouas A., Montavon G., Lebeau T. (2016). Microbial mobilization of cesium from illite: The role of organic acids and siderophores, *Chemical Geology*, **428**, 8-14.
- Hoegy F., Braud A., Jézéquel K., Lebeau T., Schalk I. (2009). New insights into the metal specificity of the *Pseudomonas aeruginosa* pyoverdine-iron uptake pathway. *Environmental Microbiology*, **11**, 1079-1091.
- Jézéquel, D., Brayner, R., Metzger, E., Viollier, E., Prévot, F., Fiévet, F. (2007). Two-dimensional determination of dissolved iron and sulfur species in marine sediment pore-waters by thin-film based imaging. Thau lagoon (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **72**, 420–431.
- Metzger, E., Thibault de Chanvalon, A., Cesbron, F., Barbe, A., Launeau, P., Jézéquel, D., Mouret, A., 2016. Simultaneous Nitrite/Nitrate Imagery at Millimeter Scale through the Water–Sediment Interface. *Environmental Science & Technology*, **50**, 8188-8195.
- Schwyn B., Neilands J.B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry* **160**, 47-56.