



Institut de Recherches en Technologies et
Sciences pour le Vivant

Soutenance de thèse

Jeudi 13 octobre 2011

À 14 h 00 - CNRS rue des Martyrs, Grenoble

Par **Florence Martin** – iRTSV/LCBM

Exploration de la biodiversité bactérienne dans un sol pollué par les hydrocarbures : analyse par marquage isotopique du potentiel métabolique et de la dynamique des communautés impliquées dans la dégradation

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des composés ubiquitaires issus de la combustion incomplète de matières organiques. Ils sont à l'origine de pollutions de l'environnement, surtout liées à l'exploitation des produits pétroliers, car ce sont des composés toxiques pour les êtres vivants et pour l'homme en particulier. De nombreuses bactéries capables de dégrader les HAP ont été isolées et étudiées, mais celles qui les dégradent *in situ* sont mal connues, car moins de 5% des bactéries du sol sont cultivables en laboratoire. Le premier objectif de cette étude était d'identifier les bactéries qui dégradent les HAP dans le sol par des méthodes moléculaires indépendantes de la culture. A cette fin, une stratégie de marquage isotopique *in situ* a été mise en œuvre qui repose sur l'utilisation du phénanthrène, un HAP à trois cycles, dans lequel l'isotope naturel du carbone a été remplacé par le ^{13}C . Cette molécule a été introduite comme traceur dans des microcosmes contenant du sol provenant d'un bassin de rétention des eaux de ruissellement d'autoroute. Les bactéries ayant incorporé le ^{13}C ont ensuite été identifiées par séquençage des gènes d'ARNr 16S amplifiés à partir de l'ADN marqué extrait du sol. Les résultats montrent que des Betaprotéobactéries peu étudiées à ce jour, appartenant aux genres *Acidovorax*, *Rhodoferax*, *Hydrogenophaga* et *Thiobacillus*, ainsi que des Rhodocyclaceae, étaient les principaux acteurs de la dégradation du phénanthrène. La prépondérance des Betaprotéobactéries a été établie par des mesures de PCR quantitative. Une analyse dynamique de la diversité bactérienne a montré que celle-ci changeait en fonction de la biodisponibilité du phénanthrène. En outre, la diversité d'arène-dioxygénases impliquées dans la dégradation des HAP a été explorée sur le plan phylogénétique et fonctionnel. Nous avons ainsi détecté des séquences nouvelles, pour la plupart apparentées à des dioxygénases de Sphingomonadales et de Burkholderiales. Grâce à la construction et l'expression d'enzymes hybrides, il a été possible, pour la première fois, d'associer une activité catalytique d'oxydation des HAP à des séquences partielles de gènes, amplifiées à partir de l'ADN du sol. Les résultats obtenus et les outils mis au point dans cette étude pourront servir à développer des méthodes de diagnostic et de suivi de biodégradation de polluants, par exemple dans le cadre d'opérations de bioremédiation de sites pollués par les HAP.

Afin de limiter votre attente si vous venez de l'extérieur du CEA, contactez Odile Rossignol (tel. : 04 38 78 45 63 Email odile.rossignol@cea.fr) en précisant vos date, lieu de naissance, nationalité et nom de jeune fille pour les femmes. Une autorisation d'entrée sera établie avant votre arrivée. Les auditeurs étrangers (hors CEE) sont invités à demander cette autorisation d'entrée au moins une semaine avant la date du séminaire. N'oubliez pas de vous munir d'une pièce d'identité.