

2-3 décembre 2021 : Conseil Scientifique du CENBG

Equipe de recherche RADEN : Radioactivité et Environnement

Axe : Microbiologie des environnements liés au nucléaire



Prélèvement d'eau de ruisseau dans l'environnement de la mine de Rophin (Puy de Dôme)



Source d'eau minérale naturellement radioactive (Mariol, Auvergne)

Sommaire

- 1) Présentation de l'équipe
- 2) Les recherches présentes et futures
 - A) Etudes de l'environnement d'une ancienne mine d'uranium française et de sources minérales naturellement radioactives : cadre de la Zone Atelier Territoires Uranifères
 - B) Etude des interactions entre microorganismes et radioéléments : projet BioCRATe et valorisation par programme de pré-maturation SYMBIOSE
 - C) Projet DEMAntèlement des Installations Nucléaires (DEMAIN)
- 3) Publications
- 4) Communications
- 5) Projets financés
- 6) Autres : personnes encadrées, responsabilités d'intérêt collectif

1) Présentation de l'équipe RADEN

Cette équipe est composée de deux parties (voir tableau des effectifs de 2013 et 2021) :

-la partie Gaz Rares adossée à la plate-forme PIAGARA

-la partie Microbiologie qui ne compte actuellement que deux permanentes : **Claire Sergeant**, responsable de l'équipe RADEN depuis octobre 2019 ; et **Marie-Hélène Vesvres**, IE, dans l'équipe depuis 2002.

Cette partie de l'équipe RADEN est issue du groupe Environnement et Chimie Nucléaire du CNAB (Laboratoire de Chimie Nucléaire Analytique et Bio-environnementale ; UMR5084 : Institut de Chimie du CNRS/Université de Bordeaux I et II) ayant fusionné avec le CENBG le 1^{er} janvier 2011.

Son évaluation par l'HCERES en 2021 est très positive et nous incite à poursuivre nos recherches

Equipe RADEN en 2013 (date du dernier passage en CS du laboratoire):

Radioactivité et Environnement	Datation, environnement et énergie nucléaire sur PIAGARA	Microbiologie des environnements extrêmes liés au nucléaire
Permanents	Bernard LAVIELLE (DR) Eric GILABERT (CR) Grégory CANCHEL (CR) Bertrand THOMAS (IR)	Claire SERGEANT (CR, HDR) Marie-Hélène VESVRES (IE)
Non permanents	Romain REBEIX (Post doc) Stagiaires de Master Physique	Nicolas THEODORAKOPOULOS Thèse IRSN/Région PACA (2010-2013) à Cadarache, co-encadrement Stagiaires de Master 2 Recherche Chimie, Licence de Chimie, IUT, autres.

Equipe RADEN en 2021 :

Radioactivité et Environnement	RADEN-Gaz Rares	RADEN-Microbiologie
Permanents	Eric GILABERT (CR) Denis HORLAI (CR, depuis 2015) Bertrand THOMAS (IR à 40%) Jocelyn DOMANGE (IR, depuis 09/2021) Rémi FAURE (AI, depuis 09/2017)	Claire SERGEANT (CR, HDR) Marie-Hélène VESVRES (IE)
Non permanents	Doctorants en co-encadrement : Marie-Line AMANY Igor RZEPLINSKI Vinicius CAVALCANTI Stagiaires de Master Physique	Adam WILLIAMSON (CDD chercheur IN2P3 depuis 09/19 => 12/2021 ; puis 1 an Prématuration CNRS) Guillaume HOLUB (Thèse au mérite EDSC, MESRI depuis 10/2019 => 12/2022) Stagiaires de Master EXCE Chimie de l'Environnement (M1 ou M2), Licence de Chimie, autres.

La thématique de recherche actuellement développée et autofinancée depuis une quinzaine d'années concerne **les phénomènes de transfert de la radioactivité vers l'environnement, médiés par des microorganismes**, et entre dans le cadre des axes de recherche de la Zone-Atelier Territoires Uranifères dont l'équipe fait partie depuis sa création en 2015.

Nous faisons aussi partie du Gdr SciNEE (Sciences Nucléaires pour l'Energie et l'Environnement) piloté par l'IN2P3 et l'INC; et plus particulièrement du pôle 4 : Radiochimie expérimentale, radio-écologie.

Nous avons participé au Groupe de Travail 11 (Energie nucléaire et Environnement) des prospectives IN2P3 à 10 ans, en proposant un projet de bioremédiation par des bactéries encapsulées.

Nos recherches s'insèrent aussi dans les priorités définies dans le Contrat d'Objectifs et de Performances COP 2019-2023 entre l'Etat et le CNRS: «*Orientation prioritaire thématique Vivant : Explorer la diversité du Vivant*» et les défis Santé-Environnement (impact des métaux lourds), Transition Energétique (comportement des RNs dans l'environnement, impact du démantèlement sur les territoires) et Territoire du Futur (devenir des anciens sites nucléaires).

Notons aussi qu'après ré-installation de sorbonnes opérationnelles en 2013, nous avons dû en 2018 vider l'ensemble du bâtiment de Chimie Chaude qui abritait nos laboratoires, et qui a été détruit en 2020 pour la mise en place du nouveau bâtiment CREATIF dans lequel nous ré-aménagerons en 2022. Depuis octobre 2018, nous sommes hébergés dans un bâtiment assez vétuste de l'Université de Bordeaux à Talence (~5 km de Gradignan) ; le bâtiment B18 ancien, lui-même voué à la destruction en 2022. Nous n'avons pas de sorbonne opérationnelle dans ce bâtiment et faisons des allers-retours réguliers entre les deux sites, y compris pour livrer nous-même les consommables, car le bâtiment n'a pas de personnel d'accueil permettant la réception de colis. A cause d'un incendie criminel en février 2021, nous avons été interdits d'accès aux laboratoires durant plus de 3 mois.

2) Les recherches présentes et futures

On sait qu'il existe des microorganismes capables de s'adapter et de survivre dans des environnements extrêmes, et notamment en terme de température et en présence de radiations^{1, 2, 3}. En l'absence d'oxygène (anaérobiose), les bactéries peuvent utiliser les mécanismes de transfert d'électrons pour "respirer" et montrer une très grande capacité réductrice vis à vis de multiples éléments, qu'ils soient radioactifs ou non. La capacité à résister aux rayonnements ionisants a été décrite chez plusieurs espèces bactériennes, phylogénétiquement éloignées, affiliées aux genres *Acinetobacter*, *Chroococciopsis*, *Deinococcus*, *Hymenobacter*, *Kineococcus*, *Kocuria*, *Methylobacterium* et *Rubrobacter*⁴. Parmi les plus résistantes, des espèces comme *Deinococcus radiodurans*⁵ ou *Rubrobacter radiotolerans*⁶ peuvent survivre à des doses allant jusqu'à 15 000 Gray. Les mécanismes impliqués mettent en jeu des systèmes performants de réparation des cassures double-brin de l'ADN⁷ et de protection et réparation des dommages oxydatifs sur les protéines⁸. Cependant, ces processus sont complexes, multifactoriels et restent encore largement inconnus.

¹ Mironenko N.V., Alekhina I.A., Zhdanova N.N. and Bulat S.A., 2000, Intraspecific variation in gamma-radiation resistance and genomic structure in the filamentous fungus *Alternaria alternata*: A case study of strains inhabiting Chernobyl reactor N°4, *Ecotox. and Environ. Safety, Environ. Res.*, section B, 45, 177-187.

² Nazina T.N., Kosareva I.M., Petrunyaka W., Savushkina M.K., Kudriavtsev E.G., Lebedev V.A., Ahunov V.D., Revenko Y.A., Khafizov R.R., Osipov G.A. et al., 2004, Microbiology of formation waters from the deep repository of liquid radioactive wastes Severnyi, *FEMS Microbiol. Ecol.* 49, 97-107.

³ Fredrickson J.K., Zachara J.M., Balkwill D.L., Kennedy D., Li S.M.W., Kostandarithes H.M., Daly M.J. et al., 2004. Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the Hanford site, Washington State, *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 4230-4241.

⁴ Cox MM, Battista JR., 2005. *Deinococcus radiodurans* - the consummate survivor. *Nat Rev Microbiol.* 3:882-92.

⁵ Brooks BW, Murray RGE., 1981. Nomenclature for "*Micrococcus radiodurans*" and other radiation-resistant cocci: *Deinococcaceae* fam. nov. and *Deinococcus* gen. nov., including five species. *Int J Syst Bacteriol.* 31:353-360.

⁶ Ferreira AC, Nobre MF, Moore ED, Rainey FA, Battista JR, da Costa MS., 2000. Characterization and radiation resistance of new isolates of *Rubrobacter radiotolerans* and *Rubrobacter xylanophilus*. *Extremophiles.* 3:235-238.

⁷ Zahradka K, Slade D, Bailone A, Sommer S, Averbek D, Petranovic M, Lindner AB, Radman M., 2006. Reassembly of shattered chromosomes in *Deinococcus radiodurans*. *Nature.* 443:569-73.

⁸ Ghosal D, Omelchenko MV, Gaidamakova EK, Matrosova VY, Vasilenko A, Venkateswaran A, Zhai M, et al., 2005. How radiation kills cells: survival of *Deinococcus radiodurans* and *Shewanella oneidensis* under oxidative stress. *FEMS Microbiol Rev* 29:361-75.

Des organismes radiorésistants ont été décrits dans des environnements variés et, en particulier, au niveau de sites pollués par des déchets nucléaires (site d’Hanford et rivière Savannah⁹, USA) ainsi que des environnements arides et désertiques (Antarctique¹⁰, désert d’Antofagasta¹¹ au Chili, déserts du Sonoran¹² et des Mojaves aux USA). Des bactéries susceptibles de sporuler et radiorésistantes ont d’ailleurs déjà été mises en évidence dans les sols superficiels de régions proches de Tchernobyl¹³.

Avant d’étudier l’impact de bactéries sur la mobilité des radioéléments, il fallait commencer par en faire un inventaire précis, dans des milieux environnementaux aussi divers que les argiles étudiées pour un éventuel stockage des déchets nucléaires en couches géologiques profondes en France (soutien de l’ANDRA), mais aussi en Suisse (soutien de la NAGRA, son homologue). Ceci a été fait dans le cadre de la thèse très novatrice de Sébastien Poulain soutenue fin 2006, mettant en évidence deux nouvelles espèces de bactéries cultivables dans l’argile du Mont Terri. Ceci constituait une preuve de la non stérilité de ces argiles, même si les quantités de bactéries autochtones sont faibles et en tout cas difficiles à réactiver. Dans un second temps, afin de caractériser les microorganismes introduits dans l’environnement souterrain du laboratoire de recherche de Meuse/Haute-Marne, des prélèvements microbiologiques ont été effectués (au sein du GNR FORPRO) dans l’air ambiant d’une galerie souterraine (profondeur - 490m) par exposition de boîtes de Pétri, ainsi qu’en paroi par grattage de l’argilite superficielle de zones dédiées. Un suivi microbiologique a ainsi été effectué à intervalles de temps réguliers entre l’achèvement de l’excavation de la galerie et 18 mois post-creusement. L’identification de ces espèces microbiennes allochtones, introduites par le creusement et la ventilation naturelle des galeries ainsi que par l’activité humaine, indique un apport régulier et abondant de microorganismes dans le laboratoire souterrain. Une banque de souches bactériennes représentatives de cette flore capable de survivre dans les conditions du laboratoire expérimental de l’ANDRA a ainsi été constituée.

En collaboration avec d’autres équipes suisses et allemandes, dans le cadre du Consortium International du Mont Terri, nous avons aussi poursuivi jusqu’en 2015 l’étude microbiologique d’argile à Opalinus et d’eaux circulant dans la formation argileuse suisse, mettant ainsi en évidence des souches thermophiles vivant dans l’eau après chauffage simulant l’élévation de température due au futur stockage de déchets radioactifs de haute activité et à vie longue.

Puis, dans le cadre de projets financés par le GNR TRASSE entre 2008 et 2012 que je portais, en collaboration avec deux équipes de l’IRSN (Fontenay aux Roses et Cadarache), deux équipes du CNRS (LIPM au CEA Cadarache et Bioinformatique à Nice) et l’unité INRA UMR1219 à Villenave d’Ornon, l’équipe a été motrice dans le volet microbiologique de l’étude de la tranchée T-22 contenant du combustible irradié et des déchets végétaux contaminés lors de la catastrophe de Tchernobyl en 1986 en Ukraine. Quatre missions sur le terrain ont été réalisées entre 2008 et 2010 : le travail sur les échantillons de sols a dû s’effectuer sur place en raison de la radioactivité

⁹ Phillips RW, Wiegel J, Berry CJ, Fliermans C, Peacock AD, White DC, Shimkets LJ. , 2002. *Kineococcus radiotolerans* sp. nov., a radiation-resistant, Gram-positive bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol.* 52:933-938.

¹⁰ Hirsch P, Gallikowski CA, Siebert J, Peiss K, Kroppenstedt R, Schumann P, Stackebrandt E, Anderson R., 2004. *Deinococcus frigens* sp. nov., *Deinococcus saxicola* sp. nov., and *Deinococcus marmoris* sp. nov., low temperature and draught-tolerating, UV-resistant bacteria from continental Antarctica. *Syst Appl Microbiol.* 27:636–645.

¹¹ Rainey FA, Ferreira M, Nobre MF, Ray K, Bagaley D, Earl AM, Battista JR, et al., 2007. *Deinococcus peraridillitoris* sp. nov., isolated from a coastal desert. *Int J Syst Evol Microbiol.* 57:1408–1412.

¹² Rainey FA, Ray K, Ferreira M, Gatz BZ, Nobre NF, Bagaley D, Rash BA, et al., 2005. Extensive diversity of ionizing-radiation-resistant bacteria recovered from Sonoran Desert soil and description of nine new species of the genus *Deinococcus* obtained from a single soil sample. *Appl Environ Microbiol.* 71:5225–5235.

¹³ Zavilgelsky G.B., Abilev S.K., Sukhodolets V.V. and Ahmad S.I., 1998, Isolation and analysis of UV and radio-resistant bacteria from Chernobyl, *J. of Photochem. Photobiol. B: Biology*, 43, 152-157.

qu'ils contenaient. Il s'agissait tout d'abord de faire l'inventaire bactérien de ces sols contaminés (cultivables et totales) par mise en culture et méthodes moléculaires. Une collection de 250 isolats cultivables a été constituée à partir des ensemencements effectués et les espèces ont été identifiées par séquençage du gène de l'ARNr 16S et analyse phylogénétique.

Nous sommes aussi capables de travailler en conditions anaérobie en boîte à gants sous azote ultrapur. Aussi, lors des 3 premières campagnes de terrain, des flacons de milieu de culture pour souches anaérobies organotrophes fermentaires, ont été ensemencés avec du surnageant de sol et incubés à 30°C. Une aliquote de ces échantillons a ensuite été étalée sur le même milieu de culture gélosé en enceinte anaérobie sous atmosphère d'azote ultrapur pour l'isolement de nouvelles souches bactériennes. Après plusieurs passages en milieu liquide et extraction de l'ADN des cultures pures obtenues, celui-ci a été amplifié par PCR et envoyé pour séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S bactérien.

Une vingtaine de souches anaérobies, appartenant aux Firmicutes, β et γ -protéobactéries, ont ainsi été isolées au CENBG.

Nous disposons donc d'une importante collection de bactéries cultivables qui a commencé à être étudiée pour leur comportement vis-à-vis de l'Uranium et du ^{137}Cs dans le cadre de la thèse de Nicolas Théodorakopoulos à Cadarache (co-encadrée par C. Berthomieu du LIPM et Claire Sergeant du CENBG, et soutenue fin 2013). La caractérisation des interactions entre un isolat bactérien de *Microbacterium* isolé par notre équipe dans un sol de la tranchée contaminée T22 proche de Tchernobyl et l'U(VI) a mis en évidence un mécanisme de détoxification actif qui met en jeu un efflux de l'U(VI) entré dans la cellule et une précipitation intracellulaire d'U(VI) sous la forme d'autunite.

Par ailleurs, l'approche moléculaire a été menée sur l'ADN génomique total extrait des sols. Après extraction de l'ADN, une amplification en chaîne a été effectuée en utilisant des amorces pour le genre des Bactéries. La comparaison des échantillons par électrophorèse en gel dénaturant (DGGE) et par pyroséquençage a confirmé la présence d'un très grand nombre d'espèces, quel que soit l'échantillon.

Et enfin, nous sommes engagées depuis 2015 dans la caractérisation microbiologique d'anciens sites miniers d'uranium français au sein de la Zone-Atelier « Territoires Uranifères dans l'Arc Hercynien : Vie sous rayonnement ionisant d'origine naturelle » (structure dépendante de l'INEE). Cette structuration amorcée nous a permis le dépôt commun d'un projet ANR en 2016, 2017 et 2018 (Radiological and ECOlogical impact of former Uranium mines - URECOL). A chaque fois, le pré-projet a été retenu mais le projet non financé.

La caractérisation de sources minérales naturellement radioactives a aussi débuté en 2019 avec le projet TIRAMISU (BiodiversiTY In RADIOactive MINeral SoURces) porté par le LPC et GEOLAB (Clermont-Ferrand) et auquel nous sommes associés, avec une thèse que je dirige au CENBG depuis octobre 2019 (Guillaume Holub).

Depuis Septembre 2019, avec l'arrivée d'Adam Williamson au laboratoire (en CDD IN2P3 pendant 2 ans), nous avons entamé des recherches dans le domaine de l'encapsulation chimique de souches bactériennes capables de décontaminer des milieux environnementaux contaminés en métaux et radionucléides. Le projet BIOCRATE est entré depuis novembre 2020 en phase de

valorisation pour le dépôt d'un brevet ; et nous avons obtenu en juillet 2021 une année de financement du projet SYMBIOSE, projet de pré-maturation CNRS.

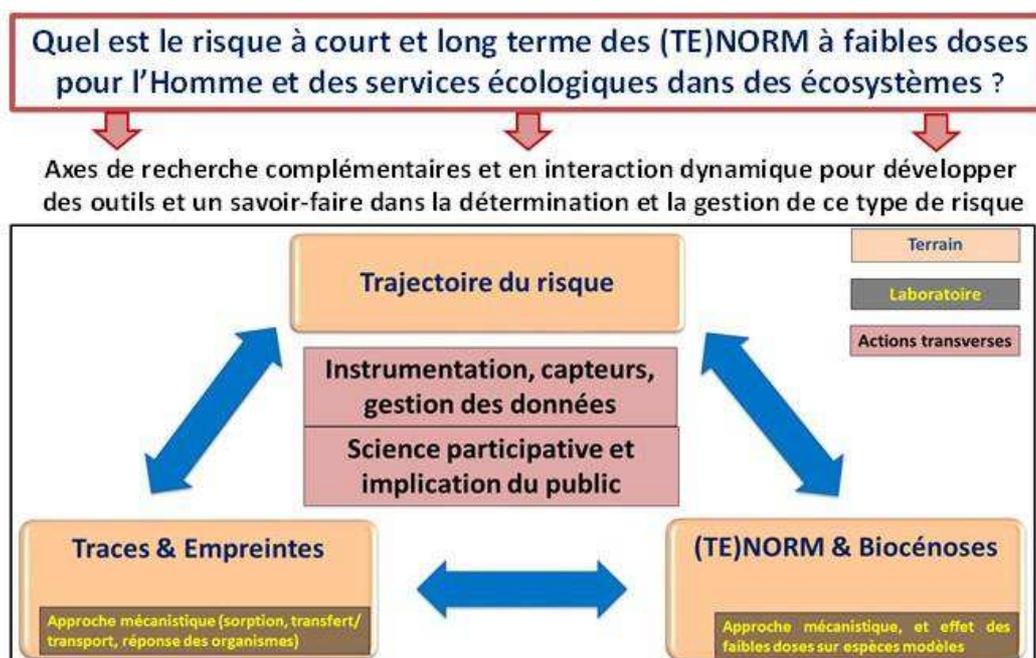
Dans le cadre de l'appel à grands projets de recherche de l'Idex de Bordeaux en 2019, le CENBG structure un nouveau projet sur le Démantèlement-Assainissement des Installations Nucléaires (DEMAIN). Je participe activement au groupe de travail qui a visité en 2019 un grand nombre de laboratoires bordelais pour créer une dynamique autour du projet. L'Université de Bordeaux a financé nos premières études en 2020 et 2021.

Le domaine particulièrement novateur de l'étude des souches bactériennes en conditions liées au domaine nucléaire et de l'interaction des radionucléides avec les microorganismes est assez peu développé en France. Les collaborations que nous entretenons avec l'IRSN, le CEA, le Laboratoire des Hyperthermophiles de l'Institut de Microbiologie de l'Académie des Sciences de Russie à Moscou et des partenaires académiques français, canadiens, belges, suisses et allemands nous permettent d'aborder ces études.

RÉSULTATS DETAILLÉS

A) Etudes de l'environnement d'une ancienne mine d'uranium française et de sources minérales naturellement radioactives : cadre de la Zone Atelier Territoires Uranifères (ZATU)

Cette thématique entre dans le cadre de la Zone Atelier « Territoires Uranifères dans l'arc Hercynien : Vie sous rayonnement ionisant d'origine naturelle » (ZATU) labellisée par l'INEE en 2015. Le programme de recherche de la ZA se décline autour de trois axes thématiques centrés sur la radiochimie (caractérisation, comportement et transfert des radionucléides, y compris par l'action de la composante microbiologique des milieux environnementaux), la biologie (effet des radiations sur les systèmes vivants) et les SHS (société et territoires uraniumifères).



Problématique et axes de recherche de la ZATU pour la période de 2019 à 2023.

a) Biodiversité microbienne environnementale à proximité d'anciens sites miniers d'uranium français

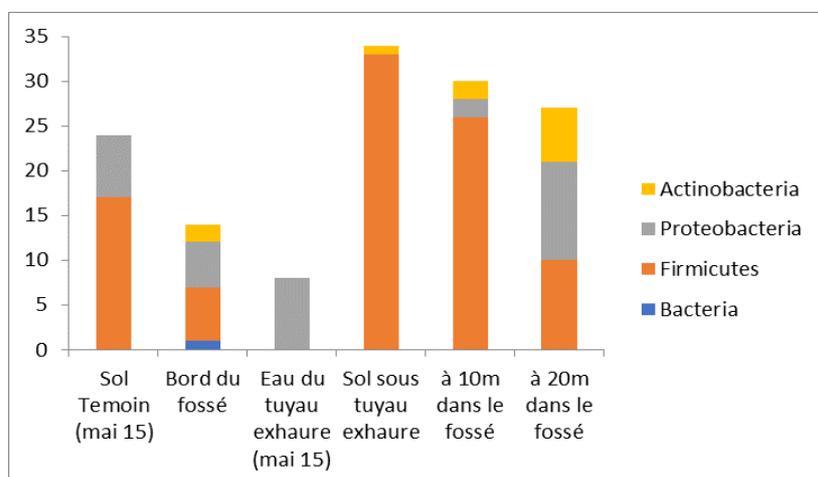
En collaboration avec des équipes de recherche de l'IN2P3 (LPC Clermont, Subatech Nantes, IPHC Strasbourg), de l'INC (IC Nice), de l'INEE (Laboratoire Microorganismes Génome Environnement, Clermont-Ferrand) et de l'IRSN, trois projets autour de l'ancien site minier de Rophin (Areva, Puy de Dôme) ont été financés: en 2015 par la MITI du CNRS (projet BIDIME, porté par C. Sergeant) ; en 2017 par NEEDS-Environnement (projet TREMLIN, porté par C. Mallet du LMGE Clermont) ; depuis 2020 par NEEDS-Environnement (projet structurant INSPECT, porté par M. del Nero de l'IPHC Strasbourg).

L'ancien site minier uranifère de Rophin est un site d'extraction d'uranium exploité par le CEA (1948-1955) qui comportait 3 types de chantiers : un chantier minier souterrain, un chantier de traitement des minerais et un chantier de stockage des résidus miniers. Actuellement, la mine n'est plus visible en surface mais de l'eau d'infiltration s'écoule vers la surface par un tuyau et se déverse dans un fossé qui rend la zone humide. La zone est actuellement classée ICPE (Installation Classée pour la Protection de l'Environnement).

Le premier projet (**BIDIME**), porté par Claire Sergeant et financé par la MITI, visait à réaliser un inventaire exhaustif des bactéries présentes dans des zones humides marquées dans la zone ICPE (en aval) et non marquées (en amont) proches de l'ancienne mine de Rophin, pour étudier l'effet de la présence et de la nature des radionucléides sur les populations. Pour cela, nous avons procédé à l'isolement et à l'identification de plusieurs centaines de souches bactériennes cultivables. L'analyse métagénomique du LMGE complète l'étude en relation avec la nature et la quantité des radionucléides présents, et avec la composition minéralogique et physico-chimique de ces sols (Subatech, BRGM Orléans). Nous avons ainsi pu isoler et identifier 128 Unités Taxonomiques Opérationnelles (UTOs) bactériennes différentes de 4 phyla, présentes dans les sols humides de ce fossé contaminé (^{226}Ra jusqu'à 35 Bq/g sol sec).

Sur le milieu de culture LB, plus de 200 souches bactériennes ont été isolées et environ 160 ont pu être séquencées et classées par phylum.

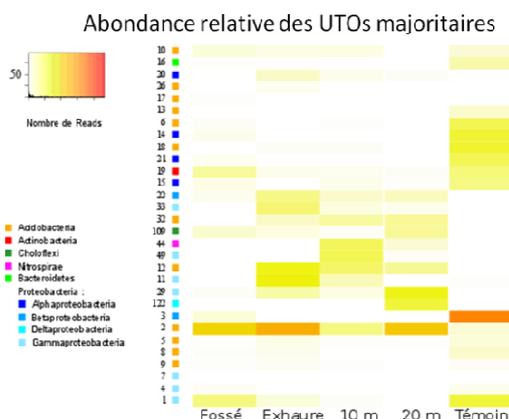
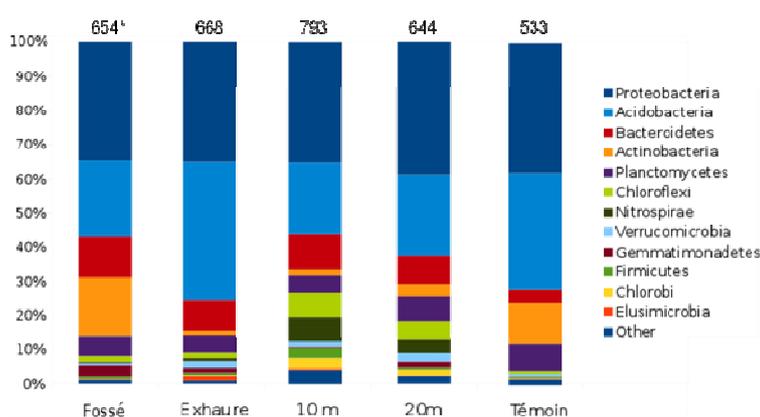
Ci-dessous un histogramme qui représente les contributions en nombre d'Unités Taxonomiques Opérationnelles (UTOs) appartenant à chaque phylum pour chacun des points échantillonnés, et un exemple d'arbre phylogénétique (pour le bord du fossé).



On peut observer l'absence des Proteobacteria et une écrasante majorité de Firmicutes dans les échantillons prélevés sous le tuyau d'arrivée de l'eau d'exhaure et à 10 mètres dans le fossé qui la collecte ainsi que les eaux drainées du stockage de résidus de traitement. Une plus grande hétérogénéité est observée dans les échantillons du sol témoin (prélevé en mai 2015), du sol sur le bord du fossé (qui n'est pas directement en contact avec l'écoulement des eaux de l'exhaure) et du sol prélevé dans le fossé à 20 mètres de l'arrivée des eaux de l'exhaure.

Le séquençage haut débit, à partir des ADN totaux des sols, a révélé 3010 séquences par échantillon ; 2019 UTOs de 23 phyla différents ont été déterminés.

Abondance relative des principaux phyla (%) dans les différents échantillons.
* nombre d'UTOs (richesse)



Les phyla majoritaires sont les *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Planctomycetes* et *Chloroflexi*.

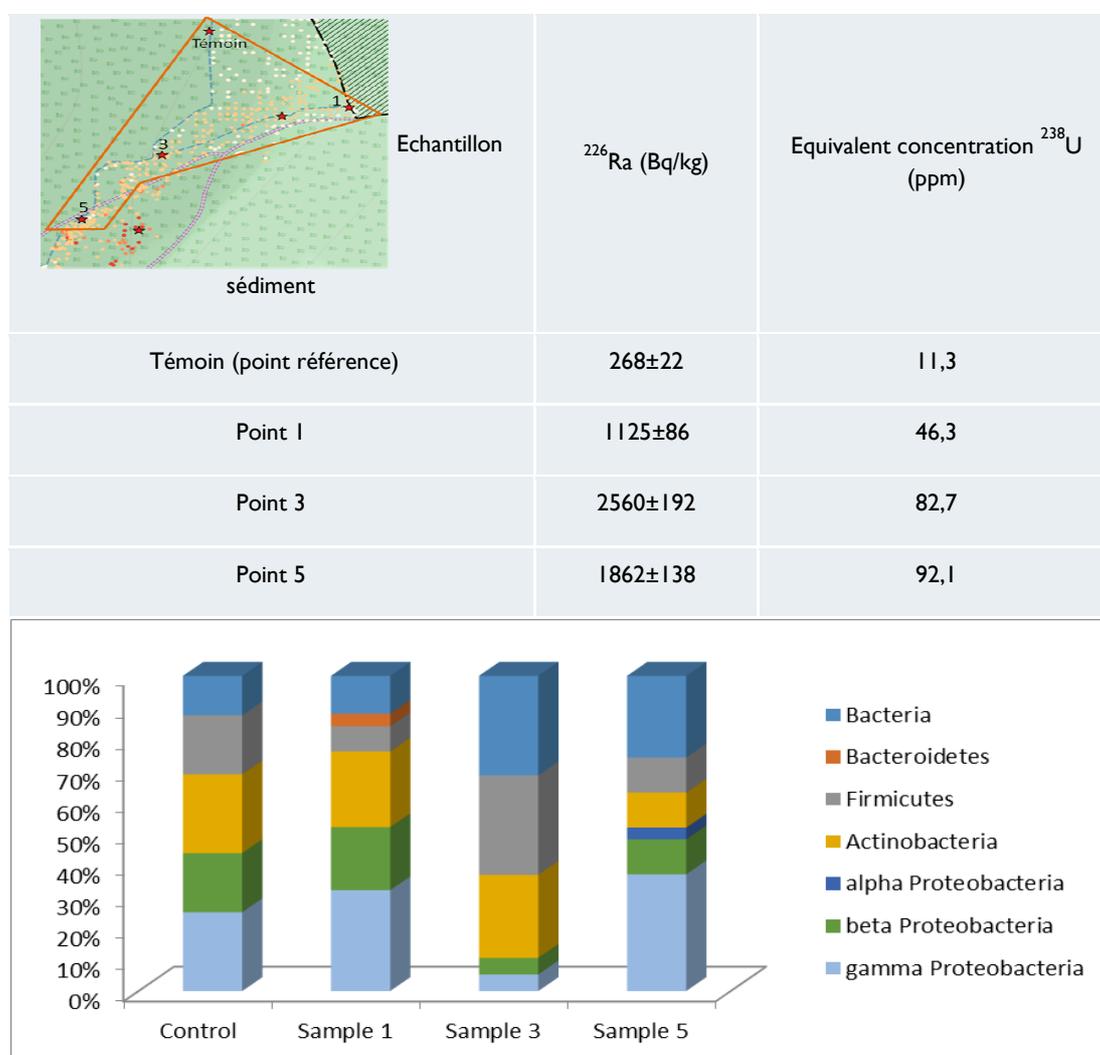
Contrairement aux résultats des souches cultivables, l'échantillon prélevé à 10 m (de plus forte radioactivité) possède la plus grande richesse bactérienne. Les échantillons Fossé, sol sous exhaure, 10m et 20m présentent une forte similarité de répartition des OTUs.

L'analyse des abondances relatives des UTOs majoritaires a montré que les teneurs en radionucléides ne sont pas les seuls éléments discriminants ; il est possible que la composition des sols ait un impact plus important sur la diversité que le niveau de radioactivité dû à la présence d'uranium.

Pour le confirmer, il aurait fallu effectuer une autre campagne d'échantillonnage, mais malheureusement celle-ci n'a pas été possible à cause du changement d'équipe d'Areva en charge du projet.

Cette étude confirme l'intérêt de mener ces études de diversité microbienne par les deux approches complémentaires, culturelles et moléculaires ; la première permettant l'isolement de souches cultivables susceptibles d'être utilisées pour étudier leur résistance et leur métabolisme vis-à-vis d'éléments stables ou radioactifs d'intérêt ; la seconde donnant une vision plus exhaustive de la communauté microbienne présente dans les échantillons environnementaux pollués.

Le deuxième projet (**TREMPLIN**), porté par Clarisse Mallet du LMGE Clermont et financé par NEEDS-Environnement, a choisi un territoire de prélèvement à l'aval de la zone ICPE, plus accessible, pour évaluer de façon significative les effets des radioéléments sur la diversité structurale et fonctionnelle des communautés microbiennes dans des sédiments en les découpant des effets des autres filtres environnementaux. Des quatre échantillons de sédiments de rivière prélevés en avril 2017, 96 souches bactériennes ont été isolées en condition aérobie et séquencées, de 73 UTOs réparties en 4 phyla (histogramme ci-dessous).



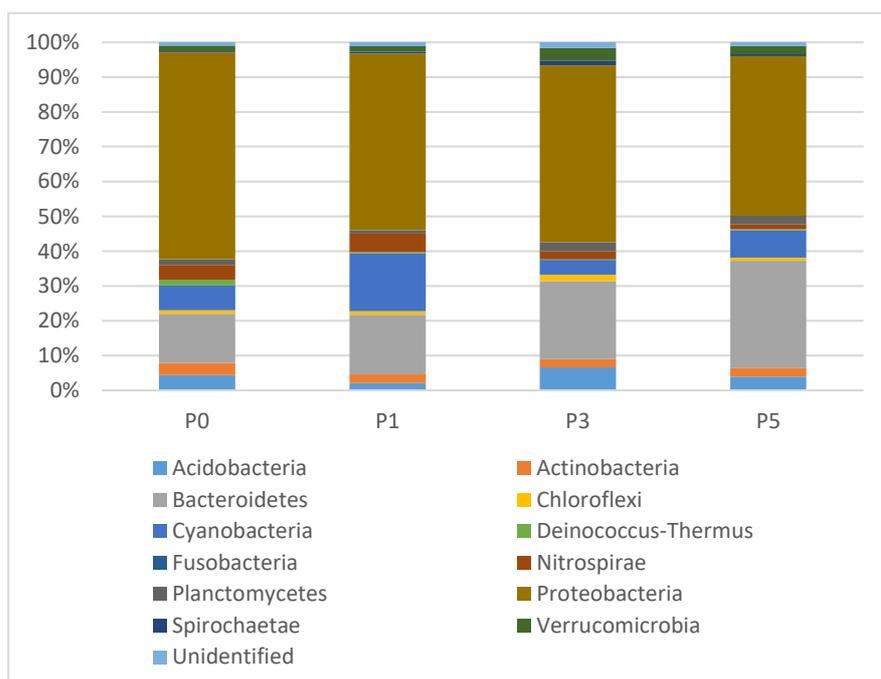
Des bactéries anaérobies (souches sulfatoréductrices BSR et thiosulfatoréductrices BTR) ont également été recherchées. Il faut souligner la particulière difficulté de cette recherche, en boîte à gants anaérobie, que très peu d'équipes en France maîtrisent. 12 OTUs de BSR ont été

isolées des 4 échantillons alors que 5 OTUs de BTR ont été isolées uniquement des points 0 et 3, mais ne sont pas issues des mêmes groupes phylogénétiques.

Nous avons aussi tenté d'isoler des Acidobactéries, famille de bactéries mise en évidence par métagénomique sur ce site et connues pour avoir une forte adaptabilité et présentes dans des sols uranifères, mais rarement isolées en culture. Ceci a fait l'objet du stage de M2 Chimie (Ecotoxicologie et Chimie de l'Environnement) de Claire Lartigue de février à juin 2017, mais nous n'y sommes pas parvenues.

Durant le stage de M2 de Guillaume Holub (6 mois en 2019), nous avons procédé à l'isolement de bactéries à partir des échantillons d'eau de la zone témoin (N0) et de la zone la plus contaminée en uranium (N5). 51 OTUs ont été identifiées, réparties sur 6 phyla. La diversité bactérienne au sein du point de référence est plus élevée que celle du point N5 contaminé en radionucléides bien que la biomasse bactérienne soit plus élevée au point N5. Ce phénomène est souvent observé dans des environnements naturels contaminés. En effet, dans un environnement contaminé, la diversité microbienne diminue car certaines espèces ne résistent pas à la présence de ce contaminant.

L'analyse métagénomique de la composition totale de la communauté bactérienne contenue dans les sédiments met en évidence des taxons tels que les *Deinococcus-Thermus*, γ -*Proteobacteria*, *Nitrospira*, *Bacteroidetes* et *Acidobacteria*, connus pour être adaptés à des environnements contaminés, notamment à l'uranium. Cependant, seuls des *Acidobacteria* et les *Bacteroidetes* sont retrouvés préférentiellement dans les sédiments les plus chargés en uranium et en radium. Que ce soit en termes de richesse ou de diversité, aucune différence significative n'est observée entre les points.



Ces résultats mettent toutefois en évidence des différences de structure de la communauté bactérienne, en termes de composition, entre les points témoins et contaminés. Ces différences pourraient en partie s'expliquer non pas par leur composition minéralogique similaire caractéristique de terrains granitiques, mais par des teneurs en Carbone Organique Total (COT) et en Azote Total (NT) plus élevées aux endroits les plus contaminés et/ou par l'activité radiologique et les quantités de radioéléments (U et Po) plus fortes dans les sédiments de ces échantillons.

Les analyses statistiques finalement décidées sont en cours pour finaliser la publication de la collaboration et intègrent :

- i) les paramètres environnementaux importants pour les microorganismes : la matière organique et le fer, c'est-à-dire le carbone total, l'azote total et le fer disponible
- ii) les éléments présentant une toxicité de nature chimique = cuivre disponible, plomb disponible, uranium disponible, polonium disponible et radium disponible
- iii) les éléments présentant une toxicité par leur pouvoir ionisant = uranium total, thorium total et plomb total.

Ainsi on pourra comparer l'importance de ces différents paramètres sur la structuration des communautés bactériennes et fongiques. On intégrera ainsi à la fois les éventuels effets chimiques ou radiologiques des métaux et radionucléides.

Cette étude très multidisciplinaire et multipartenaire complexe a demandé de multiples réunions de la collaboration, des analyses complémentaires, le choix des paramètres les plus pertinents pour les analyses statistiques, et enfin un très gros travail de bioinformatique et statistique. Le traitement des résultats est toujours en cours, pour être publiés prochainement.

A moyen terme, nous souhaitons pouvoir transposer notre approche pluridisciplinaire (physico-chimique/biologique) sur d'autres sites miniers d'intérêt ou sources naturellement radioactives, afin de construire et d'étayer une base de données permettant d'approfondir nos connaissances sur les effets de la radioactivité sur le fonctionnement des écosystèmes.

Le troisième projet pluridisciplinaire, porté par Mireille del Nero (IPHC Strasbourg), INteractions, SPéciation et Effets des radionuCléides d'une zone humide anThropisée (**INSPECT**), est financé comme projet structurant par NEEDS-Environnement pour 3 ans (2020-2022).

Il a pour ambition de structurer des recherches pluridisciplinaires pour proposer une approche intégrée et mécaniste d'un biotope terrestre complexe et anthropisé, c.-à-d. une zone humide située à l'aval d'une ancienne mine d'uranium (Rophin, France) comportant un horizon de subsurface qui est une source potentielle pour les eaux et la biosphère de cocktails de radioéléments / radionucléides (RN) naturels (uranium, thorium, polonium, radium) à l'état de (ultra)traces. L'objectif principal est d'utiliser des expertises et des techniques de pointe en spéciation chimique, chimie isotopique et (micro)biologie dans le but d'établir le concept de relations de cause à effets entre

(i) la spéciation de ces RN en milieux complexes, c.-à.d., dans la zone de battements de nappe et le sol végétalisé,
(ii) les processus de transferts des RN (source, labilité, biodisponibilité),
(iii) les actions/rétroactions entre RN, microorganismes, matières organiques et plantes ;
lesquels représentent encore autant de verrous scientifiques à l'heure actuelle.

Notre participation se situe dans le volet microbiologique du projet et constitue une partie de la thèse de Guillaume Holub. En effet, une couche de sol blanchâtre (voir photo ci-dessous) est plus fortement chargée en uranium et il est prévu d'isoler en aérobie et en anaérobie des souches bactériennes potentiellement radiorésistantes.

A cause de la crise sanitaire, le carottage de sol qui devait être mené dans la zone humide proche de l'ancienne mine au printemps 2020 l'a finalement été en juin 2021. Le travail d'isolement et d'identification des souches bactériennes aérobie et anaérobie est en cours.

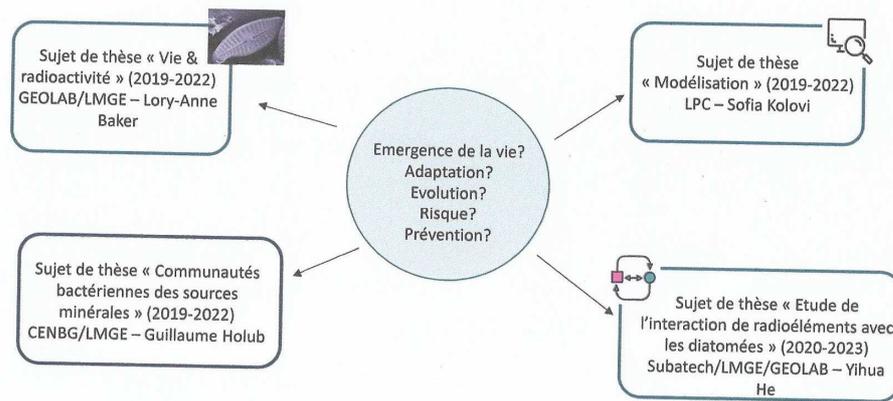


Nous allons poursuivre notre participation dans le cadre de NEEDS-Environnement par l'étude des interactions microorganismes-radionucléides dans le cadre d'un des projets fédérateurs qui porte sur l'impact des activités nucléaires sur l'environnement afin d'améliorer la compréhension des mécanismes moléculaires et macroscopiques à l'origine de l'immobilisation et de l'isolement des radionucléides en milieu géologique poreux, notamment pour augmenter la confiance dans un stockage.

b) Caractérisation de sources minérales naturellement radioactives

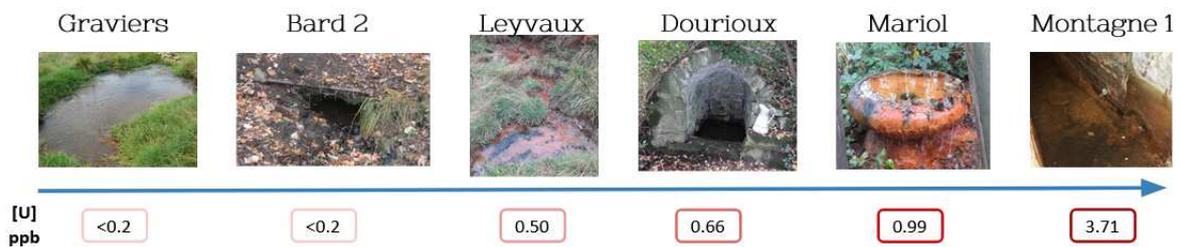
Il s'agit dans ce projet translationnel de la ZATU d'étudier et comprendre les effets des radioéléments (rayonnements / toxicité chimique) sur les microorganismes vivant dans les sources minérales naturellement radioactives d'Auvergne.

Ce projet a notamment été soutenu par l'attribution de contrats doctoraux du programme du CNRS PRIME80, de NEEDS-Environnement, du MESRI (bourse au mérite de l'ED Sciences Chimiques de l'Université de Bordeaux par Guillaume HOLUB pour notre équipe): 3 thèses ont ainsi commencé en parallèle à l'automne 2019, et une autre en 2020, soutenue par l'IN2P3 et la région Pays de la Loire. Ceci renforce la collaboration entre les différentes équipes participant au projet : le LPC Clermont, GEOLAB et le LMGE Clermont, Subatech Nantes, l'IC Nice et le CENBG.

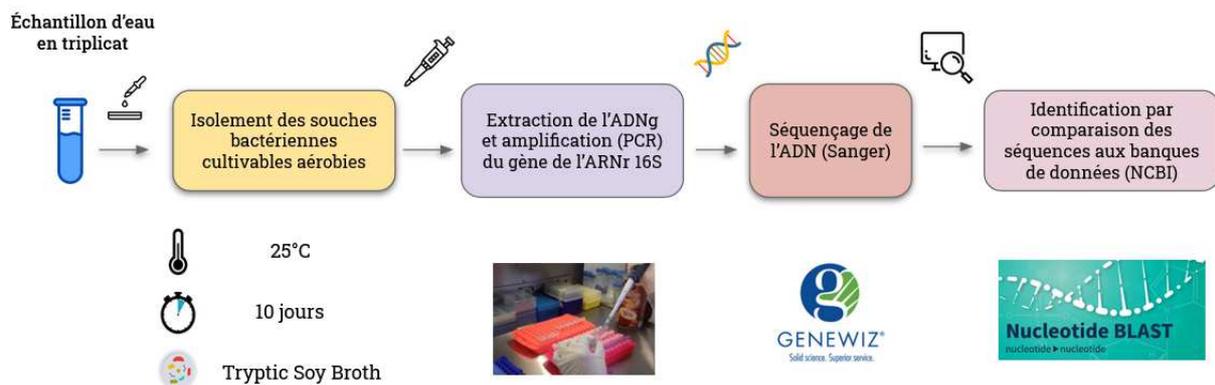


La thèse de Guillaume Holub est axée sur l'étude de l'impact de la radioactivité, naturelle ou anthropique, sur les communautés de microorganismes provenant d'échantillons d'eaux d'un site anthropisé (zone humide proche de l'ancienne mine d'uranium de Rophin) et d'un site naturel (les eaux minérales naturellement radioactives d'Auvergne). L'objectif est d'étudier la diversité bactérienne de ces environnements, d'observer si l'origine de la radioactivité a un impact spécifique sur ces communautés et de comprendre le rôle de ces communautés dans la bio-géochimie de l'uranium dans ces environnements.

Pour cela, dès le début de la thèse, en octobre 2019, nous sommes allés en Auvergne pour échantillonner dans des tubes stériles les eaux de 6 sources minérales ayant un gradient radiologique.



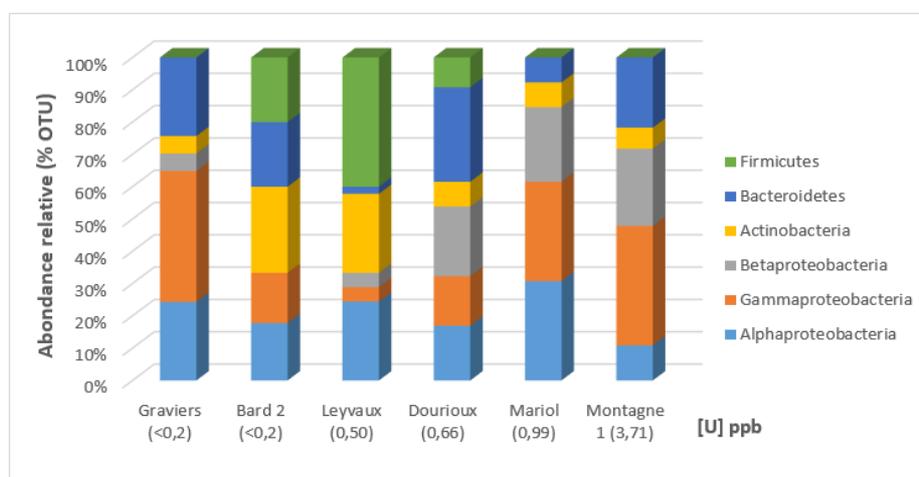
L'année 2019-2020 a été consacrée à l'isolement et à l'identification par séquençage de l'ADNr 16S de 542 souches bactériennes correspondant à 250 OTUs, de 6 phyla différents. L'arrêt de 10 semaines dû au confinement de mars à mai 2020 nous a obligés à arrêter les expériences du jour au lendemain, et fait perdre trois mois sur la partie expérimentale. Une prolongation de financement de 3 mois a été obtenue pour Guillaume Holub.



Source	pH	[U] ppb	Concentration bactérienne (UFC/ml)	Souche isolée	OTU
Graviers	6,69	< 0,2	$1,37 \times 10^4 \pm 4,11 \times 10^3$	74	37
Bard 2	6,81	< 0,2	$4,96 \times 10^4 \pm 2,22 \times 10^4$	79	45
Leyvaux	6,66	$0,50 \pm 0,12$	$2,84 \times 10^4 \pm 8,93 \times 10^3$	82	45
Dourieux	6,73	$0,66 \pm 0,11$	$4,93 \times 10^4 \pm 3,54 \times 10^4$	125	65
Mariol	6,44	$0,99 \pm 0,11$	$6,67 \times 10^2 \pm 3,58 \times 10^2$	68	26
Montagne 1	6,54	$3,71 \pm 0,11$	$6,53 \times 10^4 \pm 2,23 \times 10^4$	114	46

Mesure du pH, de la concentration en uranium (ppb), de la concentration bactérienne (UFC/ml), du nombre de souches isolées et du nombre d'OTUs obtenus pour chaque source

La répartition en six phyla des souches bactériennes isolées dans les six sources est représentée dans l'historgramme ci-dessous.



Entre 30 et 80% des espèces isolées appartiennent au phylum des protéobactéries, ce qui est cohérent avec d'autres études d'environnements radioactifs. Certaines souches isolées sont apparentées à des espèces radiotolérantes connues pour leur résistance et leur capacité à interagir avec des radioéléments et métaux.

La caractérisation de l'ensemble des communautés microbiennes par métagénomique (technique Illumina Miseq) est aussi en cours d'analyse avec l'aide du LMGE où Guillaume Holub a fait plusieurs séjours. L'analyse statistique multivariée de ces données couplée avec celles des dosages des éléments majeurs, des métaux-traces et des radioéléments effectués par les autres laboratoires de la collaboration (Subatech, LPC, LMGE Clermont) doit permettre d'affiner les résultats et de potentiellement discriminer les paramètres qui semblent influencer le plus sur la structuration des communautés microbiennes et de mieux comprendre le fonctionnement de ce système particulier.

En parallèle, nous avons commencé les expériences permettant de comprendre les mécanismes mis en place par des souches bactériennes résistantes à l'uranium pour se développer dans ces environnements naturellement radioactifs.

Les différentes étapes des prochains mois sont les suivantes :

1^{ère} étape : Sélection des souches résistantes à l'uranium parmi les souches isolées dans les sources minérales et dans un ruisseau situé à l'aval d'un ancien site minier (Rophin) (en cours)

2^{ème} étape : Caractérisation enzymatique des souches sélectionnées (galerie API ZYM)

3^{ème} étape : Recherche des mécanismes d'interactions des bactéries sélectionnées avec l'uranium

4^{ème} étape : Détermination de la localisation de l'uranium et du cuivre dans la cellule par microscopie électronique à transmission couplée à une spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (TEM- EDX) dans la plateforme BIC (Bordeaux Imaging Center).

Nous analyserons aussi les gènes présents chez les bactéries leur permettant de se développer et survivre dans des environnements enrichis en uranium, en vérifiant par PCR et électrophorèse la présence des gènes connus pour la résistance des bactéries à l'uranium et plus généralement aux métaux.

D'autre part, quelques expériences préliminaires sur les interactions entre bactéries et diatomées ont été menées à Clermont par Guillaume Holub, un premier financement FRE (Fédérations des Recherches en Environnement) Auvergne ayant été obtenu en 2020 pour les examiner.

Un nouveau projet (Commun Sourcier : COMMUNautés des SOURCes mInérales Et à Rayonnements ionisants naturels) déposé par le même consortium de laboratoires de la ZATU est financé pour 2 ans (2021-2022) par l'initiative structurante de l'INSU EC2CO (Écosphère Continentale et Côtière).

L'objectif de ce projet exploratoire est de caractériser finement d'un point de vue physico-chimique, radiologique et biologique ces écosystèmes aquatiques originaux, naturellement chargés en éléments minéraux et particulièrement en radioéléments, dans le but d'acquérir des connaissances sur la composition et la structuration du réseau trophique de ces systèmes aquatiques particuliers, pour *in fine* comprendre son fonctionnement.

Ce projet s'attachera à analyser les cohortes de microorganismes et à discriminer les effets des paramètres physico-chimiques des paramètres radiochimiques sur ces communautés microbiennes (procaryotes, eucaryotes) présentes dans l'eau et le biofilm de sources affichant des niveaux de radioactivité différents. La prise en compte et l'intégration de l'ensemble de ces données sont primordiales pour comprendre la structuration du réseau microbien dans ces écosystèmes aquatiques singuliers, et apporter des réponses aux questions que posent l'adaptation et l'évolution de la vie dans des environnements soumis à des rayonnements ionisants.

Les premiers prélèvements d'eaux et de biofilms des quatre sources sélectionnées pour ce projet se feront lors de la mission en Auvergne du 16 au 18 novembre 2021.

B) L'étude des interactions entre microorganismes et radioéléments

a) **BIOCRATE** : Biological Control of Radionuclide Transport using Encapsulations

Plus de 80 % de l'électricité française vient de son parc de 58 réacteurs nucléaires. Combiné à l'extraction intensive d'uranium (76 000 T d'uranium extrait entre 1945 et 2001, ce qui a conduit à 210 mines d'uranium abandonnées), au retraitement (entrepôts de La Hague >80 T de Pu) et aux opérations militaires héritées du passé au cours des 70 dernières années, la France a produit des quantités importantes de déchets radioactifs solides et liquides (organiques et aqueux) dont la composition et l'activité varient. En outre, les rejets accidentels et les fuites dans l'environnement à l'échelle mondiale (Tchernobyl, Fukushima, Kyshtym, Three Miles Island, Windscale) ont encore aggravé l'abondance mondiale de radio-isotopes dans les écosystèmes terrestres et nécessitent des stratégies d'assainissement innovantes pour gérer leurs dommages environnementaux. Comme la production d'énergie nucléaire continue à se développer dans de nombreux pays, des technologies performantes et si possible durables sont nécessaires pour traiter efficacement les effluents radioactifs afin d'en réduire le volume au minimum avant de les rejeter ou de les évacuer dans des installations de stockage en couches géologiques peu profondes ou profondes

On sait de plus que des volumes importants de déchets contaminés en radionucléides vont être produits lors des étapes de démantèlement-assainissement des installations nucléaires. Or très peu d'essais de bio-remédiation, moins polluants que les procédés chimiques actuels, ont été réussis sur site.

Pour développer un procédé industriel de bio-remédiation efficace par des bactéries, le passage du stade expérimental en laboratoire au stade *in situ* est principalement limité par des facteurs abiotiques (tels que fluctuation du pH, de la température ; présence d'autres métaux et composés toxiques, de matière organique ; mauvais accès aux nutriments...). Le fait de les encapsuler par un polymère pourrait avoir différents avantages : permettre une haute densité bactérienne à l'intérieur des capsules de taille pluri-millimétrique, protéger les organismes des facteurs toxiques limitant leur efficacité, augmenter leurs capacités métaboliques. On pourrait aussi développer des procédés (semi)continus permettant la récupération des bactéries après utilisation.

Ce projet, soutenu en 2020 et 2021 par NEEDS-Environnement et par le défi DEMAIN (voir ci-dessous), est développé avec Adam Williamson (CDD chercheur IN2P3-15/09/2019 au 15/12/2021) au CENBG avec une souche bactérienne encapsulée dans une matrice polymère qui permet de capter un métal divalent formant un carbonate (cuivre, zinc, plomb, nickel, cobalt, strontium, ...) contenu dans un effluent liquide en le bio-minéralisant.

Les premiers essais avec le strontium stable en 2020 sont très prometteurs et nous sommes engagés dans un **processus de valorisation du procédé avec le dépôt d'un brevet** (en lien avec Aquitaine Science Transfert qui a expertisé notre demande).

L'IN2P3 nous a accordé en novembre 2020 un financement DECLIC de 6 mois (15k€) pour ce projet appelé **BEADS** (Biogenic Encapsulated Alginate Devices for Strontium), afin de faire des expériences complémentaires avec du strontium radioactif.

Nous avons présenté au CNRS en juillet 2021, et obtenu un financement **de pré-maturation** pour notre projet **SYMBIOSE** (SYstème de nettoyage de Métaux par BIOlogique et Stérile Encapsulation) pour une année.

Sans dévoiler les détails de la technologie développée qui est en train d'être brevetée, cette année d'études fiancée par CNRS-Innovations en 2022 devrait nous permettre de :

- Poursuivre les études avec des mélanges de métaux, en batch et en colonne, en absence et en présence d'éléments complexants
- Développer un premier prototype fonctionnel d'un système de nettoyage d'effluents à une échelle de 1L, et démontrer notamment que le système peut diminuer la concentration de métaux en dessous des normes françaises d'eau potable
- Mettre en place un partenariat de co-développement avec une entreprise d'ingénierie (Ortec, SERPOL, ou autre) pour intégrer les contraintes, valider et tester les performances de notre système

Selon les résultats obtenus durant cette année, le projet pourra entrer en phase de maturation avec un soutien de la SATT Aquitaine ; pour éventuellement donner lieu à la création d'une start-up.

b) Dans le cadre de l'appel à grands projets de recherche de l'Idex de Bordeaux en 2019, le CENBG structure un nouveau **projet sur le Démantèlement-Assainissement des Installations Nucléaires (DEMAIN)**. Je fais partie du groupe de travail qui a visité en 2019 un grand nombre de laboratoires bordelais pour créer une dynamique autour du projet. L'Université de Bordeaux a financé nos premières études en 2020 et 2021 à hauteur de 60K€/an.

Ainsi, du 11 mai au 24 juillet 2020, j'ai co-encadré en télétravail le stage bibliographique de Madeleine Billmann, étudiante de M1 du master Ecotoxicologie et Chimie de l'Environnement de l'Université de Bordeaux, avec Soizic Morin (laboratoire EABX Cestas, INRAE).

L'objectif de ce stage était de réaliser un inventaire des indicateurs biologiques existants pour le suivi des opérations de démantèlement et d'assainissement des installations nucléaires ainsi que pour l'évaluation du succès des opérations de remédiation.

Il y a un réel manque d'indicateurs biologiques pour le suivi de contamination radioactive de très faible activité dans l'environnement, même si le nombre d'études sur ce sujet augmente progressivement. La recherche s'est portée sur tout radionucléide pouvant se trouver sur les lieux ou dans les matériaux issus des anciennes installations nucléaires.

Dans un premier temps, ont été considérés les éléments de la chaîne de désintégration de l'uranium 238 qui a de nombreux radionucléides fils comme le polonium 210 ou le plomb 210. Le polonium et l'uranium sont tous deux plus accumulés par les organismes aquatiques que par les organismes terrestres. Néanmoins il faut prendre en considération que, dans ces études, les concentrations dans ces deux milieux ne sont pas les mêmes, ce qui peut impacter les mécanismes d'accumulation. Ces mécanismes sont également dirigés par d'autres paramètres physicochimiques comme le pH, la température, la spéciation, et varient d'un organisme à l'autre. Certains indicateurs biologiques reconnus pour le suivi d'autres contaminants, comme les mousses ou les algues, sont aussi intéressants pour le suivi des radionucléides. D'autres, comme les champignons, se révèlent moins appropriés pour accumuler les radioéléments comme l'uranium ou le thorium. La toxicité des radionucléides variant en fonction des paramètres physicochimiques, il serait intéressant de développer des indicateurs pour le suivi de la spéciation des éléments afin de caractériser au mieux le danger radio-écologique.

L'utilisation d'indicateurs biologiques accumulateurs de radionucléides est très importante car ils peuvent à la fois servir au suivi environnemental et aux opérations de bioremédiation grâce à leur capacité à extraire les contaminants du sol. Ces propriétés de phytoextraction sont

primordiales pour diminuer le volume et la nocivité des déchets. La mise en place d'un seuil de libération encouragerait la valorisation des déchets dont la radioactivité se trouve, dans certains cas, être inférieure à la radioactivité naturelle. Malgré les études réalisées dans le domaine de la compréhension des mécanismes de transfert, beaucoup peinent encore à expliquer les différences d'adsorption et d'accumulation des radionucléides entre les espèces. La compréhension de ces mécanismes est d'autant plus importante pour les organismes destinés à la consommation humaine. Afin de protéger au mieux l'environnement il serait nécessaire de déterminer le bruit de fond radiologique. Cela permettrait de qualifier par la suite le risque et rendrait possible d'évaluer le succès des opérations de remédiation. Il serait donc enfin possible de songer à une éventuelle valorisation de ces déchets anciennement contaminés.

Nous allons poursuivre dans les années à venir des études dans le cadre de ce défi DEMAIN, notamment pour développer de nouveaux process de bioremédiation. Ceci a par ailleurs été considéré par l'IN2P3 parmi les projets de remédiation à approfondir dans le cadre de ses prospectives 2020-2030.

Toutes ces études ont été financées en grande partie sur projets (détails en partie 5 de ce rapport)

3) Publications (2013-2021)

- J.C. JEANNY, E. PICARD, **C. SERGEANT**, L. JONET, M. YEFIMOVA, Y. COURTOIS
Iron and regulatory proteins in the normal and pathological retina
Bulletin de l'Académie nationale de médecine, 197(3):661-74; discussion 674-5, 2013.
- E. PICARD, **M.H. VESVRES**, **C. SERGEANT**, M. BERDUGO, M. EL SANHARAWI, J.C. JEANNY
Iron homeostasis in pathological retina: transferrin as new therapeutic agent
American Journal of Hematology 88(5): E167-E168, 2013
- N. THEODORAKOPOULOS, V. CHAPON F. COPPIN, M. FLORIANI, T. VERCOUTER, **C. SERGEANT**, V. CAMILLIERI, C. BERTHOMIEU, L. FEVRIER
Use of combined microscopic and spectroscopic techniques to reveal interactions between uranium and *Microbacterium* sp. A9, a strain isolated from the Chernobyl exclusion zone
Journal of Hazardous Material, 285, 285-293, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.018>
- N. THEODORAKOPOULOS, L. FEVRIER, M. BARAKAT, P. ORTET, R. CHRISTEN, L. PIETTE, S. LEVCHUK, K. BEAUGELIN-SEILER, **C. SERGEANT**, C. BERTHOMIEU, V. CHAPON
Soil prokaryotic communities in Chernobyl waste disposal trench T22 are modulated by organic matter and radionuclide contamination.
FEMS Microbiol Ecol fix079,93 (8) 2017. doi: 10.1093/femsec/fix079.
- **V. LEBLANC**, J. HELLAL, M.L. FARDEAU, S. KHELAIFIA, **C. SERGEANT**, F. GARRIDO, B. OLLIVIER, C. JOULIAN
Microbial and chemical investigation of 2000 m deep Triassic rock (Meuse/Haute Marne, France)
Geosciences, 2019, 9(1), 3. doi:10.3390
- **A.J. WILLIAMSON**, M. BINET, **C. SERGEANT**
Radionuclide biogeochemistry: from bioremediation towards the treatment of aqueous radioactive effluents
Soumis à Critical Reviews in Biotechnology, 2021.
- C. MALLET, Y. HASSAN-LONI, C. CAZALA, J. CHAMPION, O. DIEZ, **M-H. VESVRES**, C. LOISEAU, **C. LARTIGUE**, **G. HOLUB**, **C. SERGEANT**, C. SIMONUCCI, G. MONTAVON

Shift in microbial communities along little stream born from an old uranium mine drainage
A soumettre à Science of the Total Environment, 2021.

-A.J. WILLIAMSON, E. LEBRAUD, C. SERGEANT

Immobilisation of strontium using encapsulated cells of *Lysinibacillus sphaericus*.
A soumettre à Environmental Science and Technology, 2022

Autres documents écrits

- C. SERGEANT, M-H. VESVRES

Preliminary report: Microbial investigations in context with the corrosion experiment IC, janvier et mai 2014.
Rapport au Mont Terri Project

- A. BAGNOUD, A. CHERKOUK, C. SERGEANT, D. KORBER, R. BERNIER-LATMANI

Microbiological analysis of the cores of the BFE-A11 drillcores at the Mont Terri Rock Laboratory
Final Report to MT project, December 2015.

- C. SERGEANT

Biodiversité microbienne environnementale à proximité d'anciens sites miniers d'Uranium français
Rapport du projet BIDIME soutenu par la MI (janvier 2016)

- J. REYNAUD, C. SERGEANT

Etat des connaissances des impacts d'une contamination radioactive sur les systèmes biologiques des réseaux des eaux usées à l'échelle d'une ville (titre dont la confidentialité pour 5 ans est maintenant levée)
Rapport final de 136 pages, remis à EDF fin février 2016

-C. MALLET, G. MONTAVON, C. SERGEANT, C. SIMONUCCI, C. DEN AUWER

Etude de l'impact des radionucléides sur la diversité microbienne autour de l'ancien site minier de Rophin
Rapport final du projet TREMPIN à NEEDS-Environnement, avril 2018

- A.WILLIAMSON, C. SERGEANT

Titre confidentiel pendant 5 ans
Rapport final de 86 pages, remis à EDF fin juillet 2019

- A.WILLIAMSON, C. SERGEANT

Brevet en cours de rédaction par la société Plasseraud mandatée par Aquitaine Science Transfert

4) Communications (2013-2021)

a) Internationales

- C. SERGEANT, M.H. VESVRES, M. PRAVIKOFF, S. NECIB, S. DEWONK, B. SCHWYN

Detection and Identification of microorganisms in IC water samples (Mont Terri)
Joint HT, MA, BN, GD, PC-C meeting, 11-12 February 2013, St Ursanne (Suisse) (**com. orale invitée**)

- V. CHAPON, N. THEODORAKOPOULOS, R. CHRISTEN, T. VERCOUTER, L. PIETTE, F. COPPIN, A. MARTIN-GARIN, C. LE MARREC, C. SERGEANT, C. BERTHOMIEU, L. FEVRIER

Microorganisms of radionuclides-contaminated soils of Chernobyl: in depth analysis of diversity and study of uranium-bacteria interactions
3rd International Conference on Radioecology & Environmental Radioactivity, 7-12 septembre 2014, Barcelona (Espagne) (**com. orale**)

- C. SERGEANT, M-H. VESVRES, V. CHAPON, L. FEVRIER, C. LE MARREC, F. COPPIN, A. MARTIN-GARIN, C. BERTHOMIEU

Bacterial diversity in a contaminated soil trench in Chernobyl
REIMEI International Workshop: Radionuclides Remediation and Clean-Up, Nantes, 9-10 février 2017 (**com. orale invitée**)

-C. SERGEANT, C.MALLET, **M-H. VESVRES**, **N. FAUSSANE**, C. LOISEAU, H. GUEGAN, B. RIDARD, Q. LE MINH, G. MONTAVON, C. ROUX, P. CHARDON, F. CLARET, V. BRETON

About the edaphic microbial diversity of the former mine of Rophin
International workshop on improving understanding of transfer processes of "Naturally Occurring Radioactive Materials" (NORM), Nantes, 13-14 juin 2017 (**com. orale invitée**)

- **E. PICARD**, Q. LEROUZIC, A. DARUICH, **C. SERGEANT**, M. BERDUGO, L. JONET, M.C. NAUD, A. THOMAS, A. MOULIN, J.C. JEANNY, Y. COURTOIS, F. BEHAR COHEN

Iron homeostasis in pathological retina: its implication and therapeutic strategy.
19th International Conference on Oxidative Stress Reduction, Redox Homeostasis and Antioxidants, 26-27 juin 2017, Paris. (**short oral com**)

-**G. MONTAVON**, D. BIRON, V. BRETON, G. BORNETTE, P. CHARDON, F. CLARET, S. LARRUE, M. DEL NERO, H. MICHEL, **C. SERGEANT**, D. SARRAMIA, T. SIME-NGANDO

The Rophin site in France- A place to conduct interdisciplinary research on NORM/TeNORM-related issues
3rd European Radiological Protection Research Week, 1-5 October 2018, Rovinj-Rovigno (Croatia) (**com. orale**)

-**G. HOLUB**, **C. SERGEANT**, **M.-H. VESVRES**, C. MALLET, L.-A. BAKER, S. KOLOVI, A. BEAUGER, D. BIRON, P. CHARDON, L. MAIGNE, D. MIALLIER, H. MICHEL, G. MONTAVON, V. BRETON

Impact of natural radioactivity on microbial communities in different mineral springs in Auvergne (Massif Central, France)
Ecotoxicomic 2020, 6-9 octobre 2020, Montpellier (virtual) (**poster**)

--**KOLOVI S.**, MAIGNE L., BAKER L-A., BEAUGER A., BIRON DG., CHARDON P., FOIS G.R., **HOLUB G.**, MALLET C., MIALLIER D., MICHEL H., MONTAVON G., **SERGEANT C.**, BRETON V.

Radiation exposure of microorganisms living in radioactive mineral springs
Soumis à 10th International Conference on High Level Environmental Radiation Areas (ICHLERA) 2020 et 2021, Strasbourg (conférence reportée en juin 2022)

-**G. HOLUB**, **C. SERGEANT**, **M.-H. VESVRES**, C. MALLET, L-A. BAKER, S. KOLOVI, A. BEAUGER, D. BIRON, P. CHARDON, L. MAIGNE, D. MIALLIER, H. MICHEL, G. MONTAVON, V. BRETON

Study of bacterial communities in several naturally radioactive mineral sources in Auvergne (Massif Central, France) and their role in uranium biogeochemistry
Soumis à 10th International Conference on High Level Environmental Radiation Areas (ICHLERA) 2020 et 2021, Strasbourg (conférence reportée en juin 2022)

-**KOLOVI S.**, FOIS G.R., LANOUAR S., CHARDON P., MIALLIER D., RIVRAIS G., ALAIN E., BAKER L-A., BAILLY C., BEAUGER A., BIRON DG., HE Y., **HOLUB G.**, LE JEUNE A-H., MALLET C., MICHEL H., MONTAVON G., SCHOEFS B., **SERGEANT C.**, MAIGNE L., BRETON V.

Radiation exposure of microorganisms living in radioactive mineral springs
Applied Nuclear Physics Conference, 12-17 septembre 2021, Prague (République tchèque)

-**L. MATHIEU**, H. GUEGAN, **C. SERGEANT**, B. THOMAS, D. HORLAIT, M. AÏCHE, F. PIQUEMAL

Academic research project on decommissioning and dismantling: the DEMAÏN project
DEM 2021 – International Conference on Decommissioning Challenges: Industrial Reality, Lessons learned and Prospects, 13-15 septembre 2021, Avignon (**poster + proceedings**)

- **L. MATHIEU**, H. GUEGAN, **C. SERGEANT**, B. THOMAS, D. HORLAIT, M. AÏCHE, F. PIQUEMAL

Academic research project on decommissioning and dismantling: the DEMAÏN project
International Conference on Radioactive Waste Management: Solutions for a Sustainable Future, AIEA, 1-5 novembre 2021, Vienne (**poster**)

-**G. HOLUB**, **C. SERGEANT**, **M.-H. VESVRES**, C. MALLET, L-A. BAKER, S. KOLOVI, A. BEAUGER, D.BIRON, P. CHARDON, L. MAIGNE, D. MIALLIER, H. MICHEL, G. MONTAVON, V. BRETON

Study of bacterial communities in several naturally radioactive mineral sources in Auvergne (Massif Central, France) and their role in uranium biogeochemistry
EcotoxicomicYR 2021, first international webinar of young microbial ecotoxicology researchers; 22 novembre-6 décembre 2021 (**com. orale**)

-L. MATHIEU, H. GUEGAN, **C. SERGEANT**, B. THOMAS, D. HORLAIT, M. AÏCHE, C. CERNA, F. PIQUEMAL
The DEMAIN project: an academic research center on nuclear dismantling and decommissioning
Soumis à International Conference on Recycling and Waste Management, 30-31 décembre 2021, Paris

b) Nationales

- N. THEODORAKOPOULOS, V. CHAPON, F. COPPIN, M. FLORIANI, T. VERCOUTER, **C. SERGEANT**, V. CAMILLERI, C. BERTHOMIEU, L. FEVRIER
Interactions between uranium and *Microbacterium* sp. A9, a strain isolated from the Chernobyl exclusion zone evidenced by microscopic and spectroscopic techniques (**com. orale**)
RST Pau, 27-31 octobre 2014

-**C. SERGEANT**, **MH VESVRES**, **N. FAUSSANE**, C. MALLET, H. GUEGAN, B. RIDARD, Q. LE MINH, G. MONTAVON, C. ROUX, P. CHARDON
Quelles communautés bactériennes présentes à proximité d'un ancien site minier d'Uranium ?
3^e colloque des Zones Ateliers, 14-16 octobre 2015, Paris (**poster**)

-**C. SERGEANT**, **MH VESVRES**, **N. FAUSSANE**, C. MALLET, H. GUEGAN, B. RIDARD, Q. LE MINH, G. MONTAVON, C. ROUX, P. CHARDON,
Quelles communautés bactériennes présentes à proximité d'un ancien site minier d'Uranium ?
VIIe colloque de l'AFEM, 4-6 novembre 2015, Anglet (**poster**)

-**C. SERGEANT**, **M.H. VESVRES**
Recherche de bactéries anaérobies dans des sols contaminés en radioéléments
Journées thématiques de l'AFEM : « Les écosystèmes anaérobies », 31 mai-1^{er} juin 2016, Marseille (**poster**)

-**C. SERGEANT**, **MH VESVRES**, **N. FAUSSANE**, C. MALLET, H. GUEGAN, B. RIDARD, Q. LE MINH, G. MONTAVON, C. ROUX, P. CHARDON
Inventaire des communautés bactériennes à proximité d'un ancien site minier d'Uranium français
XVes Journées Nationales de Radiochimie et de Chimie Nucléaire, Nice, 8-9 septembre 2016 (**poster**)

-**C. SERGEANT**, **MH VESVRES**, **C. LARTIGUE**, C. MALLET, C. LOISEAU, H. GUEGAN, G. MONTAVON, P. CHARDON, V. BRETON
Essais d'isolement de représentants cultivables d'un phylum mis en évidence par séquençage haut débit à partir d'échantillons de sols contaminés en Uranium
VIIIe colloque de l'AFEM, 17-20 octobre 2017, Camaret/Mer (**poster**)

-**G. HOLUB**, **C. SERGEANT**, **M.-H. VESVRES**, C. MALLET, L.-A. BAKER, S. KOLOVI, A. BEAUGER, D. BIRON, P. CHARDON, L. MAIGNE, D. MIALLIER, H. MICHEL, G. MONTAVON, V. BRETON
Impact de la radioactivité naturelle sur les communautés microbiennes de sources minérales en Auvergne (Massif Central, France)
5^e colloque des Zones-Ateliers, 4-6 novembre 2020, Blois (virtuel) (**com. orale**)

-**G. HOLUB**, **C. SERGEANT**, **M.-H. VESVRES**, C. MALLET, L.-A. BAKER, S. KOLOVI, A. BEAUGER, D. BIRON, P. CHARDON, L. MAIGNE, D. MIALLIER, H. MICHEL, G. MONTAVON, V. BRETON
Isolement de souches bactériennes potentiellement résistantes à l'uranium dans des sources minérales naturellement radioactives (Auvergne)
Atelier des doctorants du GdR SciNEE, 11- 12 mars 2021 (virtuel) (**com. orale**)

c) Grand public

-Présentation des activités du groupe à des stagiaires de 3^e plusieurs fois dans l'année dans le cadre du programme START : STAge Recherche Troisième. (**C. Sergeant, M-H. Vesvres, G. Holub**)

-Participation aux Journées Portes Ouvertes du Laboratoire avec stand Extraction d'ADN de fruit, en 2014 et 2016 (**C. Sergeant, M-H. Vesvres**)

-Conférence grand public invitée par la Société Astronomique de Bordeaux : « En mission scientifique à Tchernobyl, 20 ans après la catastrophe », **C. Sergeant**, Bordeaux, le 18 Mars 2015

-Conférence dans le cadre des cafés-labo du CENBG, « Quelles bactéries dans l'environnement d'anciens sites miniers d'uranium français ? », **C. Sergeant**, Gradignan, le 22 septembre 2015

-Spécialiste invitée dans le cadre d'un ciné-débat (film « Into Eternity : la gachette nucléaire ») par l'association Dealers de science sur le thème : « Anticiper le futur : quelles sont les limites ? », **C. Sergeant**, cinéma Utopia, Bordeaux, le 20 janvier 2017 en soirée

-1^e conférence grand public dans le cadre de la série des 5 conférences organisées pour les 50 ans du CENBG : « Energie nucléaire : quels avenir pour les déchets ? », par **C. Sergeant**, D. Horlait et L. Mathieu, Université de Bordeaux, le 12 avril 2017

-Conférence invitée à l'AG de l'OASU : « Diversité bactérienne dans une tranchée de sol contaminé à Tchernobyl », **C. Sergeant**, Arcachon, 7 juillet 2017

-Conférence grand public invitée dans le cadre de Pint of Science, « Quand des bactéries peuvent nous aider à décontaminer des sols : un voyage de Tchernobyl au laboratoire de recherches... », **C. Sergeant**, café Starfish Pub, Bordeaux, le 15 mai 2018 en soirée

-Conférence « Le labo parle au labo » : « Energie nucléaire : quels avenir pour les déchets ? », par **C. Sergeant**, D. Horlait et L. Mathieu, CENBG, 15 juin 2018

-Participation à la table ronde de la conférence organisée par la SFEN : « Innovation et industrie au service de la filière nucléaire » avec F. Piquemal, **C. Sergeant**, L. Mathieu, C. Cerna, M. Aiche, Université de Bordeaux, 20 septembre 2018

-Participation à la journée de célébration des 50 ans de l'IN2P3, stands Métiers (**C. Sergeant**) et Speed Searching (**G. Holub, A. Williamson**), Cap Sciences, Bordeaux, 1^{er} octobre 2021

-Interview **C. Sergeant** par Science et Avenir (site Web) pour article d'octobre 2021 : « Comment la radioactivité interagit-elle avec l'environnement ? »

5) Projets financés

Au-delà du soutien que nous ont apportés le laboratoire et l'IN2P3 (dont le soutien par le DECLIC en 2020-2021), nous avons bénéficié de nombreux financements sur projets de la MITI, de NEEDS-Environnement, de la ZATU, d'EC2CO et de l'Université de Bordeaux (cadre du projet DEMAIN) ; ainsi que de contrats de recherche par le Consortium du Mont Terri (jusqu'en 2015) et par EDF en 2015 et en 2019.

Ci-après un tableau récapitulatif des financements en Euros obtenus de 2013 à 2021.

Crédits RADEN µbio

	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Base laboratoire	4000	4000	3000	4030	3350	3500	2875	0	0
Labo gratif. stagiaire Master		1200			1364		1500		1500
MP RNUE IN2P3	7000	6250	3500	2000	5000	4000	4000	0	0
IN2P3 nouveau calcul/permanent								7500	7500
Projet BEADS (IN2P3 Déclic)								11000	4000
Contrat Mont Terri Project	7000		5600						
Projet BIDIME (MITI)			7750						
Soutien ZATU (dont projet TIRAMISU)		4000	5000	4000	2710	1500	3800		4000
RP Contrat EDF (dont x mois CDD)			20621				22500		
Projet TREMLIN (NEEDS)					5460				
Projet INSPECT (NEEDS)								3050	1450
Projet BIOCRATE (NEEDS)								11000	9250
Projet DEMAINE (Univ. Bordeaux)								3000	3000
Projet CommunSourcier (EC2CO)									2991
Total	18000	15450	45471	10030	17884	9000	34675	35550	33691

6) Autres : personnes encadrées, responsabilités d'intérêt collectif

Nous accueillons régulièrement des stagiaires des formations de l'Université de Bordeaux, en particulier du Master Chimie, spécialité écotoxicologie et chimie de l'environnement.

Personnes encadrées depuis 2013 :

- **Noémie VIDIL**, stagiaire de licence 3, Université de Bordeaux Sciences et Technologies Chimie, Chimie de l'environnement, 15 avril-14 juin 2013, Caractérisation de souches bactériennes issues de milieux environnementaux

- **Nicolas THEODORAKOPOULOS**, thèse IRSN/ Région PACA, en co-direction avec Catherine Berthomieu du LIPM Cadarache, soutenue le 20 décembre 2013.

Analyse de la biodiversité bactérienne d'un sol contaminé de la zone d'exclusion de Tchernobyl et caractérisation de l'interaction engagée par une souche de *Microbacterium* avec l'uranium

-**Julie REYNAUD**, stagiaire de Master 1 Recherche Chimie Univ. Bordeaux, spécialité écotoxicologie et chimie de l'environnement, pendant 10 semaines en 2014, Caractérisation d'une souche bactérienne environnementale et comparaison avec la souche type associée

-**Julie REYNAUD**, contrat EDF (4 mois) en 2015-2016, sujet d'étude bibliographique : Etat des connaissances des impacts d'une contamination radioactive sur les systèmes biologiques des réseaux des eaux usées à l'échelle d'une ville (titre dont la confidentialité pour 5 ans vient d'être levée)

-**Claire LARTIGUE**, 2017, stagiaire de M2 du master Ecotoxicologie et Chimie de l'Environnement de l'Université de Bordeaux (5 mois), Mise au point de méthodes culturales pour l'étude d'un phylum bactérien susceptible d'interagir avec l'Uranium

-Ai préparé **Adélaïde LEREBOURS** aux auditions des concours CNRS (section 13, 2017) et Chaire Junior de l'Idex Bordeaux en 2017, sur des projets novateurs.

-**Guillaume HOLUB**, 2019, stagiaire de M2 du master Ecotoxicologie et Chimie de l'Environnement de l'Université de Bordeaux (5 mois), Recherche de communautés bactériennes dans des sources minérales soumises à différents taux de radioactivité naturelle

-Ai aussi participé aux montages de dossiers Chaire Junior de l'Idex Bordeaux et IF Marie Curie Action en 2017 avec **Adam WILLIAMSON**, non retenus.

Ai finalement obtenu pour lui un CDD chercheur IN2P3 de septembre 2019 à septembre 2021 sur le projet : « Encapsulation chimique de souches bactériennes connues pour leurs propriétés de bioremédiation de métaux ou de radionucléides »

- **Adam WILLIAMSON**, contrat EDF (3 mois) en 2019 : sujet d'étude bibliographique dont le titre doit être tenu secret durant 5 ans.

- **Guillaume HOLUB** a obtenu une **bourse de thèse** (2019-2022) du MESRI (au mérite par l'Ecole Doctorale des Sciences Chimiques de l'Université de Bordeaux) sur le sujet : « Impact de la radioactivité naturelle et anthropique sur les communautés de microorganismes dans des hydrosystèmes ».

J'encadre cette thèse au CENBG, dans le cadre de deux projets structurants liés à la ZATU : TIRAMISU et TERROIR.

- **Madeleine BILLMANN**, étudiante de M1 du master Ecotoxicologie et Chimie de l'Environnement de l'Université de Bordeaux co-encadrée en stage bibliographique (en télétravail durant 3 mois en 2020) avec Soizic Morin (INRAE Cestas), sur le sujet suivant : « Inventaire des indicateurs biologiques pour le suivi des opérations de démantèlement et d'assainissement d'installations nucléaires et l'évaluation du succès des opérations de (bio) remédiation : état de l'art et identification des besoins de développement ».

-**Tom ROGIERS**, doctorant belge, SCK CEN and Ghent University, séjour scientifique de 3 mois au laboratoire (janvier-avril 2021) sur le projet : Exploring the potential of a natural and laboratory evolved strain of *Cupriavidus metallidurans* in the treatment of radioactive effluents by alginate encapsulation.

-**Océane SCHWING**, 2021, stagiaire de M1 du master Ecotoxicologie et Chimie de l'Environnement de l'Université de Bordeaux (3 mois), Résistance aux métaux trace métalliques de souches bactériennes isolées de l'environnement d'une ancienne mine d'uranium

-**Alice BAUDRY et Arthur ROUDAUT**, année 2021-2022, encadrement de TIPE (travaux d'initiative personnelle encadrés) par Claire Sergeant et Guillaume Holub, Classes Préparatoires PCSI spécialité Physique-Chimie , Lycée Montaigne, Bordeaux

-**Valentine SAUVAGE**, 2022, stagiaire de M2 du master Ecotoxicologie et Chimie de l'Environnement de l'Université de Bordeaux (6 mois), Développement d'une biotechnologie dépolluante des eaux usées chargées en métaux

Responsabilités d'intérêt collectif : Claire Sergeant

Responsable de l'axe RADEN-microbiologie depuis 2011
Responsable de l'équipe RADEN depuis octobre 2019

Membre élue au Conseil de Laboratoire depuis janvier 2016
Membre du Search Comitee du CENBG (1^{er} semestre 2018)
Membre de la cellule Communication du CENBG de 2011 à 2019
Responsable scientifique des stages de 3^e au CENBG depuis 2018
Membre active du groupe de travail du défi scientifique DEMAIN (DEMantèlement Assainissement des Installations Nucléaires) au CENBG depuis février 2019

Membre du bureau et du Conseil de l'Ecole Doctorale des Sciences Chimiques (Université Bordeaux) depuis 2013.

Membre de la commission de sélection de l'EDSC pour l'attribution des bourses de thèse au mérite (2018, 2020)

Membre du Conseil du Département Sciences de la Matière et du Rayonnement (Université Bordeaux) et de la Commission Finances à partir de 2019

Membre de jurys de stage de Master 2 Recherche Chimie (stages bibliographiques et stages pratiques).

Membre du comité de sélection d'un concours MCF à l'université de Bordeaux en 2021

Membre du comité de pilotage de la Zone Atelier Territoires Uranifères (INEE) depuis janvier 2015

Diverses activités : Marie-Hélène Vesvres

Membre élue au CHSCT du Laboratoire depuis 2016

Membre du groupe de travail sur les Risques Psycho-Sociaux en 2021

Membre de la cellule Communication du CENBG depuis 2019