

Proposition de sujet de thèse 2024

(A remplir par les équipes d'accueil et à retourner à Isabelle HAMMAD : hammad@cerege.fr
*à renseigner obligatoirement pour la validation du sujet, (1) : A remplir lors de la campagne d'attribution des allocations, à l'issue de la session de juin des Masters

Sujet de doctorat proposé * : Pile à électrolyse microbienne polyextrêmophile : de l'enrichissement ciblé à l'utilisation de souches axéniques.

Encadrant(s), nom, prénom, adresse mail *:

Liebgott Pierre-Pol ; pierre-pol.liebgott@mio.osupytheas.fr

Armougom Fabrice ; fabrice.armougom@mio.osupytheas.fr

Laboratoire * : Institut Méditerranéen d'Océanologie (M.I.O),
Equipe Microbiologie Environnementale et Bioprocédés.

Tableau récapitulatif du sujet

Candidat(e)⁽¹⁾	
Nom - Prénom :	
Date de naissance :	
Licence (origine, années, mention) :	
Mention et classement au Master 1 année (Xème sur Y)	
Mention et classement au S3 du Master 2 (Xème sur Y)	
Mention et classement au S4 du Master 2 (Xème sur Y)	
Mention et classement au M2 (année) (Xème sur Y)	
MASTER (nom, université)	
Sujet de doctorat proposé*	Pile à électrolyse microbienne polyextrêmophile : de l'enrichissement ciblé à l'utilisation de souches axéniques.
Encadrants (2 max, indiquer si HDR ou pas)*	Liebgott Pierre-Pol (pas HDR) (Bioélectrochimie, Microbiologie) Armougom Fabrice (pas HDR) (Approches omiques, Bioinformatique)
Laboratoire*	Institut Méditerranéen d'Océanologie
Programme finançant la recherche (indiqué si obtenu ou envisagé) (1)	Projet AMIDEX BIOBLUE (630 k€/4ans ; 2024-2028)

Intitulé* :

Pile à électrolyse microbienne polyextrêmophile : De l'enrichissement ciblé à l'utilisation de souches axéniques.

Descriptif* :

Dans le contexte énergétique mondial actuel, une transition énergétique est indispensable pour espérer atténuer la crise environnementale à venir. L'hydrogène, vecteur d'énergie décarbonée au rendement énergétique parmi les plus élevés, est considéré comme incontournable pour l'avenir dans la mesure où sa production sera la plus "propre" possible. La voie de production biologique d' H_2 (BioHydrogène ou BioH₂) par fermentation obscure (sans lumière) à haute température et en milieu salé, représenterait une technologie génératrice d'énergie, préservatrice d'eau douce et pleinement respectueuse de l'environnement. De surcroît, ce type de bioprocédé cumulerait un triple avantage : (i) produire de l' H_2 ; (ii) valoriser des résidus organiques ; et (iii) préserver l'eau douce en utilisant de l'eau de mer. Cependant, les rendements obtenus au cours d'une fermentation obscure laissent une bonne part de la matière organique sous forme d'acétate. Seules 4 moles d' H_2 sont produites à partir d'une mole de C₆ alors qu'une oxydation complète du glucose approcherait théoriquement les 12 moles d' H_2 produites.

Dans le but d'améliorer ce rendement et de lever le verrou de la fermentation sombre à 4 moles d' H_2 , un système de Pile à Electrolyse Microbienne (PEM) serait considéré comme la meilleure solution. Le but étant de proposer un système de production d' H_2 directement à partir de matière organique complexe, ou à partir du moût de fermentation obtenu au cours de la fermentation obscure dans un système bi-étagé.

Ce système de Pile à Electrolyse Microbienne permet (i) de traiter des molécules organiques (saccharides, protéines, lipides, ou acides gras volatils) tout en (ii) produisant de l'électricité, combinée à la production d'hydrogène par réduction des protons, au niveau d'une cathode abiotique. La mise en œuvre de cette approche est fondée sur l'utilisation de microorganismes caractérisés comme électroactifs, c'est-à-dire capables de transférer directement des électrons vers ou à partir d'une électrode polarisée. On distingue deux types d'électro-activités selon le sens du transfert d'électrons. Dans le cas de ce doctorat, nous nous intéresserons essentiellement aux microorganismes électrogènes (producteurs d'électricité) halophiles/thermophiles/acidotolérants/piézotolérants, capables de transférer les électrons issus de l'oxydation de la matière organique, vers une électrode (l'anode dans ce cas) avec une production d' H_2 abiotique (au niveau de la cathode) par réduction des protons.

Ce doctorat est séparé en 2 volets généraux : (i) enrichissement et étude de consortia électrogéniques naturels issus de sources hydrothermales profondes ; (ii) étude exhaustive de souches types modèles ayant des potentialités biotechnologiques reconnues.

Pour ce faire, 4 axes majeurs ont été définis autour de systèmes PEMs et d'approches omiques :

1. Enrichissements ciblés de microorganismes électrogènes polyextrêmophiles acéto- et/ou glyco- lytiques en bioréacteur bioélectrochimique à partir de cheminées issues de sources hydrothermales profondes de type fumeur noir ;
2. Etude de souches types sulfo-réductrices thermophiles marines dont l'électrogénie serait indirectement médiée par le cycle de polysulfurés/HS⁻ (cas des *Thermococcales* ou *Desulfurellales*) ;
3. Etude de souches types électrogéniques polyextrêmophiles (*Sulfolobales*) : organotrophes, acidophiles, thermophiles, piézotolérantes et leur adaptation en milieu salin.
4. Etude de la dynamique taxonomique (i.e. metabarcoding, metagénomique) et fonctionnelle (métabolome) des communautés microbiennes au sein des divers enrichissements ; Etude du métabolome et de l'expression des gènes (i.e. transcriptomique), en fonction des conditions expérimentales et des souches cibles/modèles utilisées.

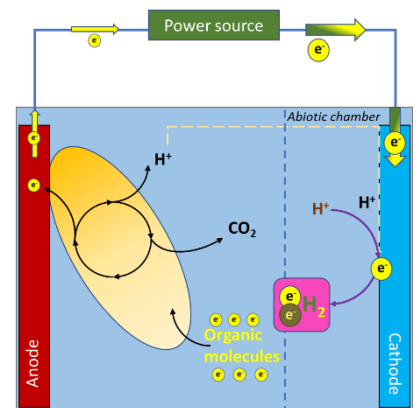
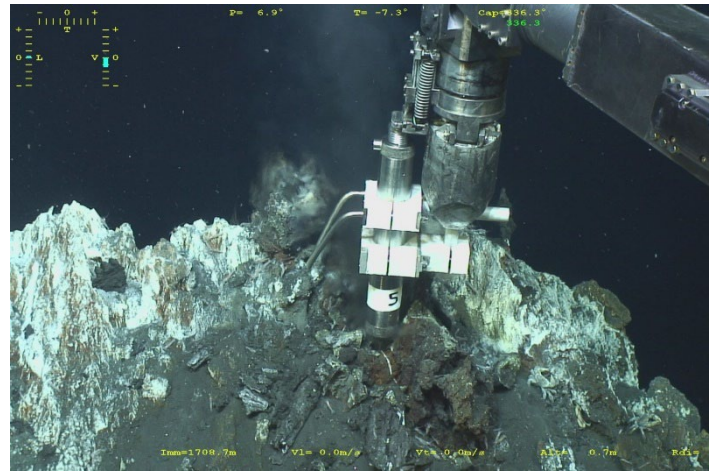


Schéma d'une Pile à
Electrolyse Microbienne

1. Enrichissements ciblés (PP Lieb Gott et F Armougom)

L'inoculum utilisé pour ces enrichissements sera issu d'une cheminée de source hydrothermale profonde (Capelinhos à 1500 m de profondeur de type fumeur noir) prélevée au cours de la campagne MOMARSAT de juin 2024. Quatre enrichissements thermophiles seront suivis au cours de ce doctorat selon (i) la pression (1 bar = ATM et 250 bars = HP) et (ii) le substrat organique de départ (Glucose et acétate) à pH 7 et à 70°C. Des enrichissements à pH 4 pourront également être initiés selon l'avancement du doctorat et de l'agenda initial. Ces enrichissements consistent en des étapes de dilution par renouvellement de milieu du fermenteur bioélectrochimique, jusqu'à la stabilisation du courant électrique produit (=stabilisation d'un biofilm électrogénique). Ce biofilm est par la suite gratté et remis en milieu liquide pour recommencer le processus 2 fois de plus.

A chaque renouvellement de milieu et de biofilm, des échantillons seront prélevés pour une analyse en Metabarcoding 16S via la technologie Nanopore Long-Read (**supervisé par F. Armougom**) qui offre une résolution taxonomique au rang de l'espèce. Les données obtenues devraient apporter des éclaircissements sur l'évolution du réseau trophique dépendant de microorganismes électrogènes, l'anode étant le seul accepteur d'électrons. Ceci permettra également d'identifier spécifiquement la biodiversité électrogénique et d'évaluer l'efficacité de notre PEM, pour une projection vers l'utilisation de PEM dans la production de BioH₂/hydrogène ; l'intérêt à long terme étant de cibler la valorisation de biodéchets riches en acétate ou en sucre.



Photographie du prélèvement d'échantillons sur le site de Capelinhos campagne MOMARSAT 2022

2. Souches types sulfo-réductrices thermophiles marines électrogéniques indirectes (PP. Lieb Gott)

L'objectif est de biocatalyser un cycle réduction/oxydation de composés polysulfurés/sulfure d'hydrogène (H₂S), sur l'anode permettant d'augmenter le courant généré de manière significative. Des travaux en cours démontrent la possibilité de déposer une couche mince de composés polysulfurés en oxydant du H₂S (H₂S → S⁰/polysulfurés) abiotiquement sur une anode (puit à électrons). Ces composés polysulfurés peuvent alors servir comme accepteur d'électrons pour un biofilm de sulforéducteurs (*Thermococcales* et/ou *Desulfurellales* spp.) réduisant ces composés polysulfurés en H₂S. En d'autres termes, l'utilisation de ces sulforéducteurs permettrait des cycles récurrents d'oxydoréduction (H₂S ↔ S⁰), favorisant la croissance du biofilm sur l'anode tout en produisant indirectement un courant électrique, lors de l'oxydation de matière organique (sucres ou AGVs) par le biofilm. L'oxydoréduction rapide du couple S/H₂S ainsi généré, permettrait d'améliorer considérablement la thermodynamique du système. Il n'existe aucune bibliographie sur ce procédé mais la niche se dessine de plus en plus aux vues de l'évolution de la bibliographie récente.

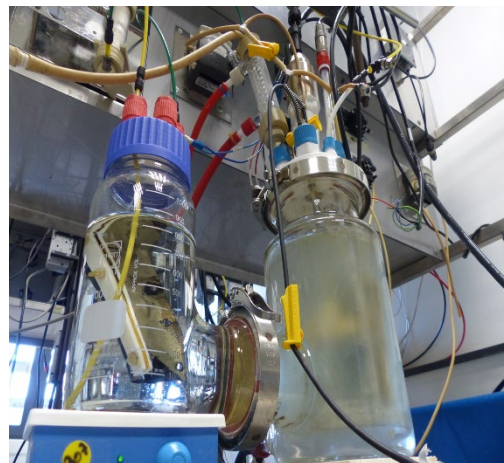
3. Souches types axéniques polyextrêmophiles électrogéniques directes (PP Lieb Gott et F Armougom)

L'objectif de cette troisième partie est de tester la capacité électrogénique de souches polyextrêmophiles originales remplissant les conditions nécessaires pour lever les verrous connus pour le développement biotechnologique des PEM. Les 3 verrous récurrents sont : l'utilisation de microorganismes acidotolérants pour l'adaptation à la chute de pH localisée, lors de l'oxydation de la matière organique (production de protons) ; l'utilisation de microorganismes thermophiles pour réduire les contaminations et favoriser la thermodynamique ; l'utilisation d'un milieu ionique (présence de sels), pour la conduction du courant. Deux souches types sont testées actuellement au laboratoire (*Sulfolobus solfataricus* ; *Desulfurella amilii*) et une troisième sera testée en début de thèse (*Saccharalobus cadissimus*). Les intérêts sont multiples : avoir des modèles d'acidophiles, piézotolérants, thermophiles électroactifs uniques au monde, pour l'étude approfondie (transcriptomique, métabolomique, **supervisé par F. Armougom**) de l'électrogénie à pression atmosphérique ou haute-pression ; Etudier leur réversibilité électroactive (microorganismes litho/organotrophes respirants sur O₂ ou sur Fe³⁺, et oxydant diverses formes de pyrite) ; étudier leur potentialité dans la production de courant électrique à partir de diverses sources organiques simples (sucres, peptides, acides gras volatils) ou de biodéchets (ménage, marché de gros...).

4. Développement omiques : Taxonomie, métabolome et transcriptome (F. Armougom)

Tout au long des divers enrichissements/isolements ou des études à l'aide de souches types, des approches omiques seront développées et pérennisées au cours du doctorat, pour l'étude exhaustive des métabolismes :

- **Metabarcoding 16S rDNA** : au cours des enrichissements/isolements un suivi de l'évolution de la biodiversité électrogénique sera effectué par séquençage nanopore (Long-Read) et l'utilisation d'outils de traitement bio-informatique en cours de développement au sein de l'équipe.
- **Métabolome** : à l'aide de plateforme de fermentation bioélectrochimique semi-automatisée (ATM et HP), nous aurons la maîtrise d'un grand nombre de paramètres du métabolome (bioprocédés, chimie analytiques...) en suivant de façon extemporanée la consommation des substrats, la production des produits, la production de courant électrique, et la croissance cellulaire, tout en faisant varier nos conditions physicochimiques.
- **Transcriptome** : des approches de transcriptomiques seront réalisées en parallèle du développement d'outils de bioinformatique nécessaires au traitement et à la compréhension des métabolismes mis en jeu.



Photographie d'une des plateformes de fermentation bioélectrochimique ATM

Détail du Programme finançant la recherche* :



630 k€ ; 2024 – 2028

Fonctionnement : 32 %

Investissement : 20 %

Ressources humaines : 48 %

(IE, Post-Doc)

Production de vecteurs énergétiques par bioélectrochimie extrémophile : de la bioénergie à l'économie bleue.

Porteurs : Pierre-Pol Liebgott ; Fabrice Armougom ; Laurie Casalot ; Lamia Ben Gaida et Hana Gannoun

Résumé du projet BIOBLUE :

BIOENERGIE (énergie obtenue à partir de la biomasse) : Production de Biohydrogène par fermentation obscure et pile à électrolyse microbienne polyextrêmophile dans un système bi-étagé : T°C, pH, Pression, Salinité. **Résultats attendus** : Production de biohydrogène à haute pression (250 bars), à partir de biodéchets.

Directeur(s) de thèse proposé(s)*

(limiter au plus à deux personnes principales, dont au moins une titulaire de l'HDR)

Directeur HDR proposé (Demande de dérogation en cours)*

Nom - Prénom : **Liebott Pierre-Pol**

Corps : **Chargé de Recherche de Classe Normale**

Adresse mail : **pierre-pol.liebott@univ-amu.fr**

Laboratoire (i.e. formation contractualisée de rattachement, éventuellement équipe au sein de cette formation) :

Institut Méditerranéen d'Océanologie (MIO), équipe Microbiologie Environnementale et Bioprocédés (MEB)

Choix de cinq publications récentes (souligner éventuellement les étudiants dirigés co-signataires) :

1. Pillot G, Santiago Ó, Kerzenmacher S & Liebott PP. (2023). *Spark of Life: Role of Electrotrophy in the Emergence of Life*. **Life** 13, 356.
2. Maria Popall R, Heussner A, Kerzenmacher S, Liebott PP, & Pillot G. (2022). *Screening for Hyperthermophilic Electrotrophs for the Microbial Electrosynthesis of Organic Compounds*. **Microorganisms** 10, 2249–2249.
3. Bengaida L, Gannoun H, Casalot L, Davidson S & Liebott PP. (2022). *Biohydrogen production by Thermotoga maritima from a simplified medium exclusively composed of onion and natural seawater*. **CR Chimie** 25, 1–15.
4. Pillot G, Ali OA, Davidson S, Shintu L, Godfroy A, Combet-Blanc Y, Bonin P & Liebott PP. (2021). *Identification of enriched hyperthermophilic microbial communities from a deep-sea hydrothermal vent chimney under electrolithoautotrophic culture conditions*. **Scientific reports** 11, 14782.
5. Pillot G, Ali OA, Davidson S, Shintu L, Combet-Blanc Y, Godfroy A, Bonin P & Liebott PP. (2021). *Evolution of Thermophilic Microbial Communities from a Deep-Sea Hydrothermal Chimney under Electrolithoautotrophic Conditions with Nitrate*. **Microorganisms** 9, 2475.

Thèses encadrées ou co-encadrées au cours des quatre dernières années*

Nom :

Intitulé :

Type d'allocation :

Date de début de l'allocation de doctorat :

Date de soutenance (si la thèse est soutenue) :

Programme finançant la recherche :

Situation actuelle du docteur (si la thèse est soutenue) :

Pourcentage de participation du directeur à l'encadrement en cas de co-direction :

Co-directeur proposé (Demande de dérogation en cours)*

Nom - Prénom : **Armougom Fabrice**

Corps : **Ingénieur de Recherche Hors Classe**

Adresse mail : **fabrice.armougom@univ-amu.fr**

Laboratoire (i.e. formation contractualisée de rattachement, éventuellement équipe au sein de cette formation) :

Institut Méditerranéen d'Océanologie (MIO), équipe Microbiologie Environnementale et Bioprocédés (MEB)

Choix de cinq publications récentes (souligner éventuellement les étudiants dirigés co-signataires) :

1. Fenouil R, Pradel N, Belahbib H, Roumagnac M, Bartoli M, Ben Hania W, et al. (2023). *Adaptation strategies to high hydrostatic pressures in Pseudothermotoga species revealed by transcriptional analyses*. **Microorganisms**. 11(3):773.
2. Frouin E, Lecoivre A, Armougom F*, Schrenk MO, Erauso G*. (2022). *Comparative Metagenomics Highlight a Widespread Pathway Involved in Catabolism of Phosphonates in Marine and Terrestrial Serpentinizing Ecosystems*. *Gilbert JA (éditeur)*. **mSystems**. 7(4):e00328-22.
3. Bourguiba H, Naccache C, Zehdi-Azouzi S, Amdouni F, Trifi-Farah N, Audergon JM, et al. (2022). *Exploration of bacterial diversity in leaves and rhizosphere soil of flood affected and unaffected apricot trees*. **Biologia**. 78(1):217-27.
4. Tamburini C, Garel M, Barani A, Boeuf D, Bonin P, Bhairy N, et al. (2021). *Increasing hydrostatic pressure impacts the prokaryotic diversity during Emiliana huxleyi aggregates degradation*. **Water**. 13(19):2616.

5. Said OB, Cravo-Laureau C, Armougom F, Cipullo S, Khelil MB, Yahya MBH, et al. (2021). *Enhanced pilot bioremediation of oily sludge from petroleum refinery disposal under hot-summer Mediterranean climate*. *Environmental Technology & Innovation*. 24:102037.

Thèses encadrées ou co-encadrées au cours des quatre dernières années*

Nom : **Pauline Lecoq**

Intitulé : **Diversité taxonomique et fonctionnelle des communautés procaryotiques océaniques associées aux particules en cours de chute et soumises au gradient vertical de pression hydrostatique : implications dans la reminéralisation du carbone**

Type d'allocation : **Bourse MRT, ED 251**

Date de début de l'allocation de doctorat : **Octobre 2022**

Date de soutenance (si la thèse est soutenue) :

Programme finançant la recherche : **ANR APERO (1,3 M€)**

Situation actuelle du docteur (si la thèse est soutenue) :

Pourcentage de participation du directeur à l'encadrement en cas de co-direction : **50 %**