

**PROGRAMME INSTITUTS ET
INITIATIVES**

Appel à projet – campagne 2021

Proposition de projet de recherche doctoral (PRD)

IMer - Institut de la Mer

Intitulé du projet de recherche doctoral (PRD): Lumière sur les biofilms ! Stress oxydatif, micro-migrations et stratégies d'adaptation

Directrice ou directeur de thèse porteuse ou porteur du projet (titulaire d'une HDR) :

NOM : **HUBAS** Prénom : **Cédric**
Titre : **Maître de Conférences des
Universités ou**
e-mail : **cedric.hubas@mnhn.fr**
Adresse professionnelle : **Station Marine de Concarneau, Place de la croix, 29900, Concarneau
(site, adresse, bât., bureau)**

Unité de Recherche :

Intitulé : **Biologie des Organismes et Ecosystèmes Aquatiques (BOREA)**
Code (ex. UMR xxxx) : **UMR 8067**

**École Doctorale de rattachement de l'équipe (future école
doctorale de la doctorante ou du doctorant) :** **ED227-Sciences vie & homme :
évolution & écologie**

**Doctorantes et doctorants actuellement encadrés par la directrice ou le directeur de thèse (préciser le nombre
de doctorantes ou doctorants, leur année de 1^e inscription et la quotité d'encadrement) : 0**

Co-encadrante ou co-encadrant :

NOM : **Dufour** Prénom : **Thierry**
Titre : **Maître de Conférences des
Universités ou** HDR
e-mail : **thierry.dufour@sorbonne-universite.fr**

Unité de Recherche :

Intitulé : **Laboratoire de Physique des Plasmas (LPP)**
Code (ex. UMR xxxx) : **UMR 7648**

École Doctorale de rattachement : **ED564-Physique en IdF
Ou si ED non Alliance SU :**

Doctorantes et doctorants actuellement encadrés par la directrice ou le directeur de thèse (préciser le nombre de doctorantes ou doctorants, leur année de 1^e inscription et la quotité d'encadrement) : 1 doctorant co-encadré à 50% (2^eme année) et 1 doctorant encadré (2^eme année)

Co-encadrante ou co-encadrant :

NOM : Prénom :
Titre : Choisissez un élément : ou HDR
e-mail :

Unité de Recherche :

Intitulé :
Code (ex. UMR xxxx) :

École Doctorale de rattachement : Choisissez un élément :
Ou si ED non Alliance SU :

Doctorantes et doctorants actuellement encadrés par la directrice ou le directeur de thèse (préciser le nombre de doctorantes ou doctorants, leur année de 1^e inscription et la quotité d'encadrement) :

Cotutelle internationale : Non Oui, précisez Pays et Université :

Selon vous, ce projet est-il susceptible d'intéresser une autre Initiative ou un autre Institut ?

Non Oui, précisez IPhyInf - Initiative Physique des infinis

Description du projet de recherche doctoral (en français ou en anglais) :

Ce texte sera diffusé en ligne : il ne doit pas excéder 3 pages et est écrit en interligne simple.

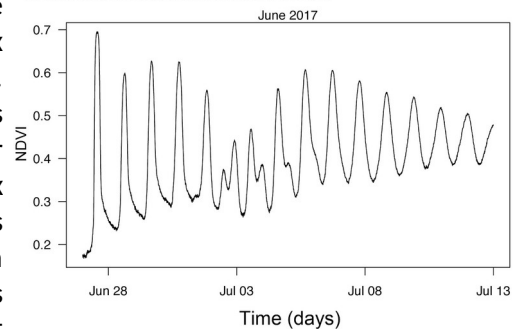
Détailler le contexte, l'objectif scientifique, la justification de l'approche scientifique ainsi que l'adéquation à l'initiative/l'Institut.

Le cas échéant, préciser le rôle de chaque encadrant ainsi que les compétences scientifiques apportées. Indiquer les publications/productions des encadrants en lien avec le projet.

Préciser le profil d'étudiant(e) recherché.

Le contexte : Dans les tapis microbiens intertidaux, les diatomées benthiques possèdent des mécanismes de photo-protection physiologiques et comportementaux leur permettant de lutter contre les fortes irradiances. Les diatomées qui se développent dans des sédiments vaseux - appelées épipéliques - sont connues pour présenter des rythmes migratoires verticaux partiellement endogènes synchronisés avec les cycles diurne et de marée. Ces microalgues s'accumulent à la surface des sédiments pendant les marées basses diurnes, formant des tapis denses et hautement productifs, visibles à l'œil nu. Elles migrent vers le bas avant l'inondation par la marée. A l'inverse, les diatomées se développant dans les sédiments sableux - appelées épipsamiques - ne semblent pas montrer de tels schémas migratoires. Cette migration verticale a été bien étudiée mais reste un phénomène complexe. Il s'agit principalement d'une réponse à l'irradiance mais elle est également très fortement couplée au rythme des marées. Ainsi des tapis microbiens reconstitués en laboratoire à partir de diatomées épipéliques récoltées sur le terrain, garderont un rythme de migration (en conditions contrôlées) parfaitement synchronisé avec le cycle de marée pendant plusieurs jours (Figure 1, Bruno Jesus comm. pers.).

Fig. 1 : Le rythme de migration endogène du microphytobenthos persiste pendant plus de 2 semaines en laboratoire dans certaines conditions (PAR=60, lumière constante). Chaque pic est synchronisé avec la marée basse. A noter : un découplage avec la marée et l'apparition d'un deuxième pic dès le 6^e cycle.



Les mécanismes cellulaires, moléculaires et génétiques à l'origine de ce rythme endogène et qui le maintiennent dans le temps sont encore méconnus. Il est supposé que les diatomées se positionnent à une profondeur optimale dans la couche de sédiment leur permettant d'effectuer la photosynthèse tout en évitant les phénomènes de photo-inhibition. On parle alors de photoprotection comportementale [1]. Ce mécanisme peut, en outre, être complété par un mécanisme de photoprotection physiologique consistant en la dé-époxydation réversible de caroténoïdes comme la diadinoxanthine (DD) dans une forme dissipatrice d'énergie : la diatoxanthine (DT). Ce deuxième mécanisme de photoprotection non photochimique agit comme un extincteur en détournant l'énergie lumineuse excessive des centres de réaction du photosystème II, limitant les dommages aux appareils photosynthétiques [2].

Qu'il s'agisse d'adaptation à la lumière (photo-adaptation) ou à d'autres forçages environnementaux (cycles diurnes, cycle de marée), il est probable que de nombreux autres systèmes de régulations



interviennent pour maintenir l'homéostasie de paramètres clefs chez les diatomées benthiques. Sans que cela n'ait été clairement démontré jusqu'à maintenant, la sécrétion de substances extracellulaires (notamment de polymères à haut poids moléculaire) est souvent avancée comme un système de régulation permettant aux diatomées de maintenir un environnement favorable à leur croissance. La matrice du biofilm est, en effet, composée d'une grande diversité de molécules de faible et haut poids moléculaire appelées substances polymériques extracellulaires ou encore exopolymères (EPS). Les EPS microphytobenthiques sont principalement composés de sucres, de protéines et d'autres molécules. Les EPS sont également capables d'absorber une grande diversité de petites molécules et d'ions, ce qui augmente la diversité moléculaire de la matrice du biofilm [3]. Les sucres produits par le microphytobenthos sont principalement des hétéropolymères, avec une grande diversité de monomères utilisés. Ils sont de divers poids moléculaires allant des hydrates de carbone ne contenant que quelques sucres aux molécules hautement complexes ; la proportion relative des différentes fractions détermine la structure physico-chimique de la matrice.

Les objectifs : L'objectif général de la thèse est de comprendre les mécanismes qui régissent ces phénomènes de migration à partir d'expérimentations en laboratoire et de terrain. Pour cela, le.a doctorant.e sollicité.e utilisera un modèle de biofilm original, disponible en abondance dans les viviers de la station marine de Concarneau et qui présente la particularité d'être composé d'espèces épipéliques migratrices (majoritairement *Pleurosigma formosum* et *Gyrosigma balticum*) qui ne sont jamais émergées. De ce fait, les communautés microphytobenthiques semblent ne répondre qu'au stimuli de lumière sans que ne se superpose l'effet de la marée sur leur comportement migratoire. Ce modèle de biofilm original a déjà permis la publication d'une nouvelle approche de métabolomique non ciblée par GC-MS et LC-MS sur les biofilms microphytobenthiques [4]. Plus spécifiquement, le.a doctorant.e vérifiera une hypothèse sur la migration des diatomées épipéliques qui se place en rupture par rapport aux recherches réalisées jusqu'à maintenant et pour laquelle nous avons déjà effectué des observations. Notre hypothèse principale sous-tend que la migration est induite par des mécanismes de signalisation. Des observations préliminaires consistant à mettre en contact des biofilms reconstitués en laboratoire avec le surnageant de biofilms préalablement soumis à de fortes irradiances, ont montrées une induction nette de la migration chez les biofilms non éclairés. De plus, 5 heures plus tard, les biofilms présentaient tous des biomasses de surfaces similaires, démontrant ainsi que le surnageant peut avoir un impact réversible sur le biofilm. Notre projet de thèse vise donc à établir précisément les comportements migratoires de nos modèles (biofilms de vasière intertidale et biofilms de vivier) face à divers stimuli et à tester notre hypothèse principale qui part du postulat que la migration n'est pas induite directement par la présence de lumière mais plutôt par un phénomène de communication chimique entre les diatomées. Si notre hypothèse est vérifiée, les recherches passées sur le sujet devront être révisées à la lumière de nos résultats et le concept même de photoprotection comportementale devra être réévalué.

Le surnageant de nos biofilms éclairés sera analysé par des techniques de chimie analytique (LC-MS/MS et GC-MS) afin de déterminer quels métabolites sont surexprimés. Le.a doctorant.e sollicité.e s'intéressera aux molécules de signalisation chez les diatomées, en particulier aux oxylipines : des dérivés oxygénés d'acides gras qui constituent une famille très diverse et complexe de métabolites secondaires chez les diatomées. Ces molécules sont impliquées dans plusieurs processus biologiques, notamment la signalisation intra- et intercellulaire, ainsi que dans la défense contre les facteurs de stress biotiques et les brouteurs [5]. Les oxylipines sont des composés oxygénés biosynthétisés à partir d'acides gras polyinsaturés (AGPI). Leur biosynthèse implique, l'oxydation des acides gras en hydroperoxydes par des lipoxygénases qui ajoutent de l'oxygène moléculaire à la chaîne carbonée des acides gras. Chez les diatomées, les activités lipoxygénases impliquent généralement des AGPI C16 et C20. avec une position d'insertion de l'oxygène très diverse et apparemment associée à la spécificité de l'espèce. Pour cette partie nous pourrions bénéficier de nos appareils de chimie analytique de l'équipe SOMAQUA de BOREA et de la plateforme de spectrométrie de masse du MNHN. De plus, l'expertise de Camille Oger (spécialiste de la synthèse



des lipides bioactifs) de l'Institut des Biomolécules Max Mousseron de l'université de Montpellier permettra de nous focaliser sur la famille des oxylipines et de conduire des expérimentation à partir d'oxylipines de synthèse.

L'importance de ces mécanismes de signalisation chimique sur les schémas migratoires sera étudiée dans une logique interdisciplinaire consistant à exposer les biofilms de diatomées épipéliques à des atmosphères de plasma froid. Cette expertise est représentée par Thierry Dufour (codirecteur de cette thèse), physicien spécialisé dans les sciences de la Vie au LPP (Laboratoire de Physique des Plasmas) à Sorbonne Université. Les plasmas froids seront générés dans l'air ambiant sous forme de gaz faiblement ionisés, caractérisés par des propriétés électriques, chimiques, radiatives, thermiques et dynamiques facilement modulables. Le doctorant sera formé aux méthodes de génération et de caractérisation du plasma froid et participera à l'innovation de deux procédés plasma ad hoc: un procédé « direct » permettant d'exposer directement les biofilms à des espèces radicalaires (e.g. OH^{\cdot} , O_2^{\cdot} , NO^{\cdot} et/ou $\text{O}_2^{\cdot-}$) et un procédé « indirect » consistant à enrichir l'eau de mer en espèces à longue durée de vie (e.g. NO_3^- , H_2O_2 , peroxy-nitrite). La dose de rayonnement UV sera aussi modulée en intensité et dans le temps (cycles). Ces conditions « plasma » permettront de stimuler/stresser les biofilms microphytobenthiques mais aussi les oxylipines de synthèse développées par l'Institut des Biomolécules Max Mousseron. Le doctorant pourra ainsi clairement corrélérer des voies de signalisations (stimulées et/ou inhibées par plasma) avec les schémas migratoires des diatomées.

Il est attendu que les résultats nous éclairent de manière fine (i.e. à l'échelle moléculaire, métabolique et physiologique) sur les capacités de résilience et d'adaptation des communautés microbiennes. Les réponses apportées répondront aux questionnements plus larges concernant les mécanismes d'adaptation et d'évolution chez les diatomées. Le doctorant.e pourra vérifier si des fonctions essentielles aux assemblages microbiens sont maintenues et si cela induit des changements des communautés. Cette thèse, à l'interface des trois grandes disciplines que sont l'écologie microbienne, la physique des plasma et la chimie organique devrait nous permettre de mieux comprendre comment les microorganismes s'adaptent à leur environnement et quels mécanismes sont privilégiés et/ou les plus efficaces lorsqu'ils sont confrontés à des conditions qui affectent leur sélection. Elle s'inscrit parfaitement dans la volonté de l'IMer de développer une approche transversale sur le thème changements global, risques et adaptations.

Références : [1] Prins, Deleris, Hubas, Jesus (2020) Effect of Light Intensity and Light Quality on Diatom Behavioral and Physiological Photoprotection. *Frontiers Mar. Sci.* 7:203; [2] Cartaxana, Ruivo, Hubas, Serodio, Jesus (2010) Physiological versus behavioral photoprotection in intertidal epipellic and epipsammic benthic diatom communities, *JEMBE* 405 :120–127; [3] Wotton (2004) The ubiquity and many roles of exopolymers (EPS) in aquatic systems. *Scientia Marina*, 68 :13–21; [4] Gaubert-Boussarie J, Prado S, Hubas C (2020) An Untargeted Metabolomic Approach for Microphytobenthic Biofilms in Intertidal Mudflats, *Frontiers in Mar. Sci.* 7:250; [5] Nanjappa D, d'Ippolito G, Gallo C, Zingone A, Fontana A (2014) Oxylipin diversity in the diatom family Leptocylindraceae reveals DHA derivatives in marine diatoms. *Mar Drugs* 12(1):368-384.

Merci d'enregistrer votre fichier au format PDF et de le nommer :
« ACRONYME de l'initiative/institut - AAP 2021 - NOM Porteur.euse Projet »

Fichier envoyer simultanément par e-mail à l'ED de rattachement et au programme :
cd_instituts_et_initiatives@listes.upmc.fr avant le 20 février.