

## **Proposition de sujet de thèse - Institut de l'Océan.**

### **Caractérisation des mécanismes d'action et évaluation de l'écotoxicité des revêtements antifouling dits écoresponsables.**

#### **Coencadrement**

R. Lami (LBBM) (50%) - Ecologie microbienne des biofilms.

L. Nicole (LCMCP) (50%) – Physique et chimie des matériaux.

**Descriptif** : contexte, objectifs scientifiques, justification de la démarche, adéquation aux priorités de l'Institut.

Les biofilms sont des associations de microorganismes se développant sur toute surface immergée, provoquant, à terme, un phénomène communément dénommé biofouling. Bien que le biofouling soit un processus naturel, son développement induit des coûts économiques majeurs pour les activités humaines dans le milieu marin (corrosion accélérée, biodétérioration, biodégradation,...). L'usage de substances antifouling est donc massif, mais ces composés sont des biocides dangereux pour les organismes et les écosystèmes marins, comme pour la santé humaine. Cependant, le développement de substances et de revêtements antifouling innovants et écoresponsables est aujourd'hui limité par deux difficultés majeures, auxquelles ce sujet de thèse se propose d'amener des réponses.

D'une part, la nature et les profils d'expression des mécanismes microbiens clefs qui conduisent à la formation des biofilms en milieu marin restent mal connus. Pourtant, de nombreuses stratégies antifouling reposent sur le principe de l'inhibition de ces mécanismes-clefs. En l'absence d'information, le choix se porte encore trop souvent (si ce n'est systématiquement) sur l'utilisation de molécules biocides à très large spectre et par conséquent particulièrement toxiques pour l'environnement. Une meilleure identification et une meilleure connaissance de ces mécanismes-clefs permettra à terme d'identifier des composés permettant de les inhiber spécifiquement. Dans ce sens, la connaissance des voies du quorum sensing et des modalités de son inhibition sont particulièrement prometteuses. Il s'agit d'un mécanisme de coordination cellulaire conduisant à la formation de biofilm particulièrement étudié au LBBM. D'autres mécanismes-clefs sont également à cibler, comme ceux reposant sur l'expression des voies du c-di-GMP, encore très peu étudiées alors même qu'elles pourraient jouer un rôle clef dans la mise en place de nombreux biofilms environnementaux.

D'autre part, la toxicité des composés capables d'inhiber la croissance des biofilms en milieu marin reste très mal évaluée. Bien que des tests aient été mis en place, en particulier grâce à l'évolution de la réglementation qui les rend nécessaires avant la commercialisation de nouvelles peintures antifouling, de nombreux progrès restent à réaliser dans ce domaine. Par exemple, le nombre d'organismes modèles cibles reste limité et est trop souvent restreint à quelques modèles de laboratoire. Dans le même sens, la mortalité est souvent l'unique paramètre évalué au cours de ces tests, et l'identification des mécanismes biologiques affectés reste un champ de recherche très ouvert. Pourtant, l'amélioration de notre connaissance des effets écotoxicologiques des antifouling est essentielle. A terme, elle permettra une caractérisation fine de la toxicité de tout nouvel antifouling qui sera commercialisé par les industriels du domaine.

Pour relever ces défis, le LBBM (Laboratoire de Biodiversité Microbienne) et le LCMCP

(Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris) sont associés pour la conception de revêtements antifouling écoresponsables. Dans ce partenariat, le LCMCP imagine et conçoit des revêtements innovants, et le LBBM analyse la colonisation microbienne (couplage d'approches moléculaires et microscopiques) sur ces revêtements pour en évaluer l'efficacité (tests en laboratoire, en aquarium et en pleine mer). Le LBBM met également en place des tests d'écotoxicité adaptés pour en vérifier l'innocuité écologique. Ce partenariat est pleinement en phase avec les objectifs de l'Institut de la Mer de Sorbonne Université qui ambitionne de travailler sur des questions complexes nécessitant des approches multidisciplinaires. Le financement d'une bourse de doctorat sur ce sujet renforcera également le positionnement de Sorbonne Université dans le domaine compétitif du design de revêtements antifouling écoresponsables, qui nécessite de mettre en synergie nos forces en sciences des matériaux et en écologie microbienne marine.

### **Déroulé du projet de thèse :**

Ce travail de thèse s'appuiera sur les projets actuellement financés au LBBM et qui visent à tester l'efficacité de revêtements innovants mais aussi leur écotoxicité, et en particulier ceux produits par le LCMCP.

Dans un premier temps, le/la doctorant(e) cherchera à mieux caractériser l'expression des mécanismes clefs microbiens conduisant à la mise en place du biofilm sur les revêtements testés, que ce soit sur des coupons soumis à une colonisation expérimentale par des souches microbiennes ou par immersion en aquarium ou en pleine mer. Les biofilms seront collectés sur les différents supports testés. Nous testerons plus particulièrement des revêtements FRCs (fouling release coatings) et des revêtements à matrice érodable contenant des substances antifouling identifiées comme peu écotoxiques. La diversité microbienne colonisatrice sera décrite par un couplage d'approches de microscopie et d'approches moléculaires, selon des protocoles de routine mis en place au laboratoire. L'expression des gènes clefs impliqués dans la mise en place des biofilms sera analysée par transcriptomique, et l'expression des métabolites clefs (molécules du quorum sensing, c-di-GMP) par des approches de métabolomique (UHPLC-HRMS/MS).

Dans un deuxième temps, le/la doctorant(e) caractérisera l'écotoxicité des différents revêtements ciblés. Des lixiviats seront produits selon la norme NF EN ISO15181, par immersion de coupons tests dans de l'eau de mer artificielle, à différents temps d'incubation (de quelques jours à 6 mois). Le(a) doctorant(e) caractérisera la composition de ces lixiviats et en testera l'écotoxicité sur des organismes modèles bien connus (ex : tests sur larves de balanes). Il/elle veillera à élargir et améliorer la gamme des biotests disponibles, en particulier pour cibler des organismes méditerranéens (encore peu utilisés pour tester l'écotoxicité des revêtements antifouling). Il/elle cherchera également à utiliser des biotests permettant d'évaluer non seulement la mortalité mais également comment certaines fonctions physiologiques sont affectées (comme l'expression de gènes SOS chez des rapporteurs microbiens, les paramètres photosynthétiques chez des microalgues, la croissance et le développement du squelette chez des larves d'oursin).

### **Calendrier et publications envisagées :**

Les premiers mois de la thèse seront consacrés à initier le suivi de la colonisation des revêtements antifouling à tester, en laboratoire, en aquarium et/ou en pleine mer, dans le cadre des projets actuellement financés au LBBM. Des suivis réguliers (tous les mois, pendant au moins 1 an) seront mis en place, et le/la doctorant(e) collectera régulièrement ces coupons

qui seront, au cours de la première et deuxième année, analysés par des approches de microscopie, de biologie moléculaire et de métabolomique. Les tests écotoxicologiques seront préparés et mis au point lorsque nécessaire au cours de la première année, et déployés sur la seconde et troisième année. Les six derniers mois de thèse seront consacrés à la rédaction de publications et du manuscrit. Trois publications (ou brevets) sont envisagées à l'issue de ce travail : la première sur l'efficacité des revêtements antifouling testés, la seconde sur les profils d'expression des mécanismes-clés sur les différents types de revêtements, la troisième sur la caractérisation écotoxicologique des revêtements qui seront testés.

### **Profil de la candidature recherchée :**

Le/la doctorante aura idéalement une formation avec une orientation en Sciences de la Mer, avec une appétence particulière pour la microbiologie et l'écotoxicologie. Il/elle aura développé au cours de son Master 2 des compétences en microbiologie, métabolomique et/ou biologie moléculaire. Le/la doctorante recruté(e) devra faire preuve d'une grande ouverture d'esprit, d'une importante capacité de travail afin d'être capable d'interagir avec de nombreux collègues dans un contexte multidisciplinaire.

### **Quelques références récentes des encadrants sur le sujet :**

Romani M, Warscheid T, **Nicole L**, Marcon L, Di Martino P, Lebaron P, **Lami R** (2022) Current and future chemical treatments to fight biodeterioration of outdoor building materials and associated biofilms: moving away from ecotoxic and towards efficient, sustainable solutions. *Science of the Total Environment* 802:149846 (IF=7.9).

Romani M, Adouane E, Carrion C, Veckerlé C, Boeuf D, Fernandez F, Lefèvre M, Intertaglia L, Rodrigues AMS, Lebaron P, **Lami R** (2021) Diversity and activities of pioneer bacteria, algae and fungi colonizing ceramic roof tiles during the first year of outdoor exposure. *International Biodeterioration and Biodegradation* 162:105230 (IF=4.96).

Romani M, Carrion C, Fernandez F, Intertaglia L, Pecqueur D, Lebaron P, **Lami R** (2019) High bacterial diversity in pioneer biofilms colonizing ceramic roof tiles. *International Biodeterioration & Biodegradation* 144:104745 (IF = 4.96).

Tourneroche A, **Lami R**, Hubas C, Blanchet E, Vallet M, Escoubeyrou K, Paris A, Prado S (2019) Bacterial-fungal interactions in the kelp endomicrobiota drive autoinducer-2 quorum sensing. *Frontiers in Microbiology* 10:1693 (IF = 5.6).

Faustini, M., **Nicole, L.**, Ruiz-Hitzky, E., & Sanchez, C. (2018). History of organic-inorganic hybrid materials: prehistory, art, science, and advanced applications. *Advanced Functional Materials*, 28(27), 1704158 (IF=18.8).

Girard L, Lantoine F, **Lami R**, Vouvé F, Suzuki MT, Baudart J (2019). Genetic diversity and phenotypic plasticity of AHL-mediated quorum sensing in environmental strains of *Vibrio mediterranei*. *The ISME Journal* 13:159–169 (IF=10.3).

Morelle, Q., Senani, S., **Nicole, L.**, Gaudon, M., Rozes, L., & Le Bourhis, E. (2019). Hybrid piezochromic coatings for impact detection on composite substrates for aeronautic. *Materials Letters*, 253, 140-143 (IF=3.4).