

PROPOSITION DE SUJET DE THESE

Formulaire demande de financement : ARED - ISblue - ETABLISSEMENTS - ...

pour dépôt sur le serveur <https://theses.u-bretagne.fr/sml> au format PDF

**Identification du projet**

Acronyme du projet (8 caractères *maximum*) : **COMPARO**

Intitulé du projet *en langue française* : **Élucidation des mécanismes moléculaires de Colonisation d'Organismes Marins par le Pathogène *Vibrio harveyi* en lien avec le Réchauffement Océanique**

Intitulé du projet en langue anglaise : **Unravelling the molecular mechanisms of the colonization of marine organisms by the *Vibrio harveyi* pathogen in relationship with the global warming**

**Domaine d'innovation stratégique (DIS) du projet**

**Cocher le DIS prioritaire** au sein duquel le projet de thèse s'intègre.

- DIS 1 : Innovations sociales et citoyennes pour une société ouverte et créative
- DIS 2 : Chaîne alimentaire durable pour des aliments de qualité
- DIS 3 : Activités maritimes pour une croissance bleue
- DIS 4 : Technologies pour la société numérique
- DIS 5 : Santé et bien-être pour une meilleure qualité de vie
- DIS 6 : Technologies de pointe pour les applications industrielles
- DIS 7 : Observation et ingénieries écologique et énergétique au service de l'environnement

Si aucun DIS ne correspond, cocher « Projet Blanc ».

- « Projet Blanc »

**Préciser le sous-domaine correspondant** : **3B** – Valorisation de la biomasse marine et biotechnologies (pour toutes applications)

## Présentation de l'établissement porteur (bénéficiaire de l'aide régionale)

Établissement porteur du projet : Université de Bretagne-Sud

Ecole Doctorale : EDSML

## Identification du-de la responsable du projet (futur-e directeur-trice de thèse)

Nom du laboratoire d'accueil : **Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines (LBCM)**

**Le présent projet a été validé par la direction du LBCM.**

Code du laboratoire (U/UMR/USR/EA/JE/...) : **EA 3884**

Directeur du Laboratoire : **Pr. Nathalie BOURGOUGNON**      Nom de l'équipe de recherche : sans objet

**Nombre HDR dans le laboratoire : 8**

**Nombre de thèses en cours : 10**

**Nombre de post-docs en cours : 2**

**Nom et prénom du directeur de thèse (HDR), porteur du projet : Pr. Alain DUFOUR**

(<http://www-lbcm.univ-ubs.fr/fr/le-laboratoire/qui-sommes-nous/membres.html>)

- e-mail : **alain.dufour@univ-ubs.fr**

Téléphone : **02 97 87 45 82**

- **Publications récentes du directeur de thèse** (nb total et 5 références max au cours des 5 dernières années) :

**51 publications** au total, dont **15 depuis 2014** et **3 en commun avec la co-directrice de thèse, Dr. C. Paillard.**

**.5 références** au cours des 5 dernières années :

S. Rodrigues, **C. Paillard**, **A. Dufour**, and A. Bazire. 2015. Antibiofilm activity of the marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. 3J6 against *Vibrio tapetis*, the causative agent of Brown Ring Disease. **Probiotics and Antimicrobial Proteins** 7, 45-51.

S. Rodrigues, **C. Paillard**, G. Le Penne, **A. Dufour**, A. Bazire. 2015. *Vibrio tapetis*, the causative agent of Brown Ring Disease, forms biofilms with spherical components. **Frontiers in Microbiology** 6, 1384. (IF 4.0)

S. Chevalier, E. Bouffartigues, J. Bodilis, O. Maillot, O. Lesouhaitier, M.G.J. Feuilloley, N. Orange, **A. Dufour**, P. Cornelis. 2017. Structure, function and regulation of *Pseudomonas aeruginosa* porins. **FEMS Microbiology Reviews** 41, 698-722. (IF 12.198)

S. Chevalier, E. Bouffartigues, A. Bazire, A. Tahrioui, R. Duchesne, D. Tortuel, O. Maillot, T. Clamens, N. Orange, M.G.J. Feuilloley, O. Lesouhaitier, **A. Dufour**, P. Cornelis. 2018. Extracytoplasmic function sigma factors in *Pseudomonas aeruginosa*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms**. pii: S1874-9399(17)30313-9. doi: 10.1016/j.bbagr.2018.04.008. Available online 2 May 2018. (IF 5.018)

S. Rodrigues, **C. Paillard**, S. Van Dillen, A. Tahrioui, J.M. Berjeaud, **A. Dufour**, A. Bazire. 2018. Relation between biofilm condition and virulence in *Vibrio tapetis*: a transcriptomic study. **Pathogens** 7, 92. (CiteScore 2017 3.52)

- **Expériences d'encadrement et co-encadrement de doctorants (passées et en cours)**

Co-direction de **9 thèses soutenues** au total (depuis 1996) et d'**une thèse en cours**. Sur les 6 années passées :

**Sophie Rodrigues**. Caractérisation et contrôle du biofilm de *Vibrio tapetis*, pathogène de la palourde japonaise *Ruditapes philippinarum*. ARED 100%. Soutenance le 01/12/2014. Situation actuelle : post-doctorante à l'Université de Rouen Normandie. Thèse co-dirigée par **Dr. C. Paillard** et **Pr. A. Dufour**.

**Marjolaine Simon**. Lutte contre les biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* dans le contexte de la mucoviscidose. CDE UBS 100%. Soutenance le 02/04/2015. Situation actuelle : enseignante dans le secondaire.

**Albane Jouault**. Altérocine et stratégies anti-biofilms. ARED 50% - CDE UBS 50%. Soutenance prévue : Septembre 2019.

## Co-directrice de thèse : Dr. Christine PAILLARD (HDR)

([https://www-iuem.univ-brest.fr/lemar/equipe/paillard\\_christine/](https://www-iuem.univ-brest.fr/lemar/equipe/paillard_christine/))

- **Laboratoire de recherche co-encadrant : Laboratoire des sciences de l'Environnement MARin (LEMAR), UMR 6539. Le présent projet a été validé par le LEMAR.**

- e-mail : [christine.paillard@univ-brest.fr](mailto:christine.paillard@univ-brest.fr)

Téléphone : 02 98 49 86 50

- **Publications récentes de la co-directrice de thèse :**

**103 publications** au total, dont **29 depuis 2014** et **3 en commun avec le co-directeur de thèse, Pr. A. Dufour.**

**.5 références** au cours des 5 dernières années :

Cardinaud M, Barbou A, Capitaine C, Bidault A, Dujon AM, Moraga D & **Paillard C.** 2014. *Vibrio harveyi* adheres to and penetrates tissues of the European abalone *Haliotis tuberculata* within the first hours of contact. **Appl Environ Microbiol** **80**, 6328-6333.

Bidault A, Richard G, Le Bris C & **Paillard C.** 2015. Development of a TaqMan real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Vibrio tapetis* in extrapallial fluids of clams. **PeerJ** **3**, e1484.

Der Sarkissian C, Pichereau V, Dupont C, Ilsøe PC, Perrigault M, Butler P, Chauvaud L, Eiríksson J, Scourse J, **Paillard C** & Orlando L. 2017. Ancient DNA analysis identifies marine mollusc shells as new metagenomic archives of the past. **Mol Ecol Resour** **17**, 835-853.

Dias GM, Bidault A, Le Chevalier P, Choquet G, Der Sarkissian C, Orlando L, Medigue C, Barbe V, Mangenot S, Thompson CC, Thompson FL, Jacq A, Pichereau V & **Paillard C.** 2018. Comparative phenotypic, molecular and virulence characteristics of *Vibrio tapetis* and related strains isolated from molluscs and fishes suffering vibriosis. **Front Microbiol** **9**, 227.

Delavat F, Bidault A, Pichereau V & **Paillard C.** 2018. Rapid and efficient protocol to introduce exogenous DNA in *Vibrio harveyi* and *Pseudoalteromonas sp.* **J Microbiol Methods** **154**: 1-5.

- **Expériences d'encadrement et co-encadrement de doctorants (passées et en cours)**

Directrice de **4 thèses (100%)** et co-directrice de **16 thèses soutenues** au total et de **trois thèses en cours**. Sur les 6 années passées :

**Cédric Le Bris.** 2010-13. Réponses immunitaires phénoloxydases. Co-encadrement 50%. Situation actuelle : Poste MCF 64 - Biochimie, Biologie Moléculaire. Université du Littoral Côte d'Opale, Boulogne sur mer.

**Sophie Rodrigues.** 2011-14. Caractérisation et contrôle du biofilm de *Vibrio tapetis*, pathogène de la palourde japonaise *Ruditapes philippinarum*. ARED 100%. Situation actuelle : post-doctorante à l'Université de Rouen Normandie. Thèse co-dirigée par **Dr. C. Paillard (LEMAR, IUEM)** et **Pr. A. Dufour.**

**Bruno Dubief.** 2013-17. Plasticité ou Adaptation locale des populations d'ormeaux face à la vibriose. Co-encadrement 50%. Soutenance en Février 2017. CRPE concours.

**Clarisse Lemonnier.** 2015-18. Effet des changements environnementaux sur la dynamique des communautés et des groupes fonctionnels MICROBiens. Co-encadrement 50%. Thèse en cours, soutenance prévue en avril 2019.

**Morgan Smits.** 2016-2019. Understanding of host-pathogen interactions for the selection of resistant/tolerant strains for aquaculture. Co-encadrement 50%. Thèse co-tutelle en cours. Soutenance prévue en décembre 2019.

**Alexandra Rahmani.** 2016-2019. Mécanismes de pathogénicité de *Vibrio tapetis*, responsable de la maladie de l'anneau brun chez les palourdes et de poissons. Co-encadrement 30%. Thèse en cours. Soutenance prévue en décembre 2019

**Autre collaboration : Pr. Bassem ALLAM, Stony Brook University, NY, USA : co-encadrant, accueillera le (la) doctorant(e) dans son laboratoire (mobilité de 2 mois prévue).**

(<https://you.stonybrook.edu/madl/people/faculty/bassem-allam/>)

## Présentation du projet (en langue française ou anglaise, 2 à 3 pages)

### Résumé du projet (4000 caractères maxi espaces compris) :

Le dérèglement climatique et l'augmentation de la température de l'eau de mer ont conduit à un déclin des populations naturelles d'ormeaux sur les côtes bretonnes dans les années 1998-2005. La souche *Vibrio harveyi* ORM4, isolée lors de cette hécatombe, est capable de reproduire ces épisodes de mortalités en conditions contrôlées. Ceci est dépendant de la température puisque *V. harveyi* ORM4 n'est capable d'induire une mortalité chez l'ormeau que si la température de l'eau de mer est supérieure ou égale à 18°C, constituant un modèle de choix pour étudier les mécanismes favorisant le développement d'infections en réponse au réchauffement océanique. *V. harveyi* ORM4 adhère en quelques heures aux branchies de l'ormeau, avant de pénétrer dans l'organisme et d'être retrouvé dans l'hémolymphe. Ainsi, l'adhésion de *V. harveyi* ORM4 sur le mucus de branchies d'ormeau est le point de départ d'un ensemble de processus d'expression de gènes liés à la virulence aboutissant à une septicémie et à une mort de l'ormeau. Cependant, les étapes liées à l'adhésion et la formation de biofilms (populations organisées de microorganismes sur des surfaces solides) chez *V. harveyi* ORM4 restent inconnues, tout comme le sont les gènes responsables de la virulence. Le but de ce projet de thèse sera d'analyser les mécanismes de virulence du pathogène *V. harveyi* ORM4 lors des étapes initiales de l'infection de l'ormeau Européen *H. tuberculata*. Le suivi en temps réel des étapes initiales d'adhésion et de formation de biofilm dans des conditions *ex vivo* sur du mucus de branchies d'ormeau n'a encore jamais été réalisé et constitue un aspect particulièrement novateur de ce projet. Spécifiquement, le (la) doctorant(e) aura en charge : l'identification par des méthodes omiques de gènes potentiellement impliqués dans la colonisation, la délétion de ces gènes et la complémentation des mutants de *V. harveyi* ORM4, les tests des effets de ces délétions sur le pouvoir infectieux de cette bactérie, et notamment la mesure de la capacité qu'ont les mutants à adhérer et coloniser le mucus de branchies d'ormeaux. L'expression de ces gènes sera suivie au sein du biofilm en formation, par le biais de biorapporteurs bactériens à l'échelle de la cellule bactérienne unique, ce qui constitue un second point particulièrement novateur. Enfin, il sera examiné si le processus de colonisation peut être inhibé par l'altéroïcine, une protéine anti-biofilm naturelle étudiée au LBCM. Pour mener à bien ce projet, il/elle utilisera un large éventail de techniques de biologie (microbiologie, biologie moléculaire, microscopie confocale à balayage laser et à épifluorescence, analyses d'images, analyses bio-informatiques de données génomiques et transcriptomiques, infections d'ormeaux) et de chimie analytique (chromatographie liquide et différents types de spectrométrie de masse pour caractériser le mucus). Ces techniques sont maîtrisées dans les deux principaux laboratoires d'accueil (LBCM et LEMAR) et dans le laboratoire partenaire étranger (Stony Brook University, NY, USA). La construction des biorapporteurs et de mutants de délétion chez *V. harveyi* ORM4 a été récemment mise au point au LEMAR. Ces mutants seront testés pour la formation de biofilms au sein de chambres à flux contenant du mucus. La formation de biofilm se fera dans différentes conditions, notamment de température, afin de comprendre l'effet du changement climatique sur la capacité d'infection de cette souche. Ces travaux permettront ainsi de caractériser les stratégies d'infection d'un important pathogène d'organismes marins, en lien avec l'augmentation des températures de l'eau de mer.

### Présentation détaillée du projet :

#### 1 - Hypothèse et questions posées, identification des points de blocages scientifiques

**Contexte :** Les bactéries du genre *Vibrio* représentent une fraction importante des pathogènes marins responsables de lourdes pertes aquacoles. Elles sont capables d'infecter une large variété d'organismes, de l'homme aux mollusques tels que l'ormeau. Les mécanismes responsables de la virulence des *V. harveyi* pathogènes de mollusques restent largement inconnus. La souche *V. harveyi* ORM4, isolée lors d'une sévère épidémie en Bretagne (Nicolas *et al.*, 2002), provoque une mortalité massive (jusqu'à 90% du stock) des ormeaux (Travers *et al.*, 2009, Cardinaud *et al.*, 2014a). Il est à noter que cette mortalité est strictement dépendante de la température de l'eau de mer puisqu'elle nécessite une température d'au moins 18°C, mais ne se produit pas à 17°C ou en-dessous (Travers *et al.*, 2009). *Haliotis tuberculata* (ormeau européen) – *V. harveyi* ORM4 constitue le modèle d'interaction hôte-pathogène dans lequel la température joue un rôle aussi crucial sur une gamme de température aussi étroite. Il s'agit donc d'un modèle particulièrement pertinent pour étudier les mécanismes favorisant le développement d'infections et donc le déclin de populations naturelles d'animaux en réponse au réchauffement océanique.

**Question posées :** l'objectif de cette thèse sera de répondre à deux grandes questions scientifiques :

- Quels sont les mécanismes moléculaires majeurs de la colonisation des ormeaux par *V. harveyi* ?
- Lesquels de ces mécanismes sont dépendants de la température de l'eau de mer ?

Les réponses à ces questions apporteront des connaissances fondamentales sur les interactions hôte-pathogène en milieu marin en lien avec le réchauffement climatique et devraient permettre de dégager des perspectives biotechnologiques visant à inhiber ou contrôler le processus d'infection des animaux.

### **Grandes étapes du projet :**

- Détermination de gènes de *V. harveyi* potentiellement impliqués dans la colonisation des branchies des ormeaux
- Construction de souches de *V. harveyi* permettant de vérifier l'implication des gènes candidats : mutants, mutants complémentés, souches contenant des rapporteurs de l'expression des gènes sélectionnés
- Caractérisation du mucus de branchies d'ormeaux
- Étude de la capacité des mutants à adhérer au mucus de branchies d'ormeaux, à former des biofilms (populations organisées de microorganismes sur des surfaces solides), et à infecter les ormeaux
- Effet de la température sur l'expression des gènes clés pour la colonisation des animaux, cette expression étant quantifiée à l'échelle de la cellule unique, ce qui constitue une des originalités du projet (dans la plupart des recherches en microbiologie, les expressions génétiques sont quantifiées à l'échelle de la population bactérienne, ce qui peut occulter des événements cruciaux pour la virulence) (pour revue, Davis & Isberg, 2019).
- Inhibition ou contrôle du processus de colonisation par l'altérocine, une protéine anti-biofilm naturelle produite par une bactérie marine.

### **Points de blocages scientifiques :**

Les deux principaux laboratoires dans lesquels se déroulera la thèse ont d'ores et déjà levé les verrous technologiques potentiels, en ayant mis au point les méthodes efficaces chez *V. harveyi* pour construire des mutants, des mutants complémentés et des rapporteurs de l'expression des gènes (Delavat *et al.*, 2018), en ayant mis au point les méthodes de RNAseq à partir de biofilms de *Vibrio* cultivés *in vitro* (Rodrigues *et al.*, 2018), et en ayant réalisé des tests préliminaires de culture *in vitro* de biofilms de *V. harveyi* sur des lames de verres recouvertes de mucus de branchies d'ormeaux. Les expertises du LBCM et du LEMAR sont complémentaires et couvrent toutes les méthodologies nécessaires au projet (maîtrise des modèles ormeaux et *V. harveyi*, infections en laboratoire, culture et observation des biofilms, techniques de chimie analytique permettant de caractériser le mucus). Une mobilité du (de la) doctorant(e) dans le laboratoire du Pr. Bassem ALLAM (NY, USA) lui permettra de plus de caractériser les composants biologiques et chimiques du mucus. Tous les équipements nécessaires à la réalisation du projet sont disponibles dans les laboratoires d'accueil, qui s'engagent à assurer le financement des consommables.

### **2 - Approche méthodologique et techniques envisagées :**

- Détermination de gènes de *V. harveyi* potentiellement impliqués dans la colonisation des branchies : deux approches seront utilisées : i) génomique : le génome de *V. harveyi* ORM4 a été séquencé (LEMAR, résultats non publiés) et des gènes susceptibles de coder pour des protéines impliquées dans différents phénomènes liés à la colonisation (motilité, quorum sensing, systèmes de sécrétion, ...) seront recherchés *in silico*. De tels gènes ont déjà été identifiés et l'analyse sera approfondie ; ii) transcriptomique : des expériences de RNAseq *in vitro* (bactéries en biofilm vs bactéries en culture liquide) et *in vivo* (bactéries infectant des ormeaux vs bactéries seules) sont en cours de réalisation et le (la) doctorant(e) devra analyser les résultats pour mettre en évidence les gènes très fortement régulés lors de la formation de biofilm et/ou de l'infection. Les deux approches sont complémentaires : la première est basée sur les connaissances bibliographiques d'autres modèles bactériens alors que la seconde est totalement sans *a priori*, ce qui permettra de se focaliser sur des gènes jamais précédemment étudiés dans aucun modèle.
- Construction de souches de *V. harveyi* permettant de vérifier l'implication des gènes candidats : les mutants, les mutants complémentés et les souches contenant des rapporteurs de l'expression des gènes sélectionnés seront construits par des méthodes classiques de biologie moléculaire (PCR, clonage, transformation par électroporation, mutagenèse par recombinaisons homologues, fusion de promoteurs avec des gènes rapporteurs codant pour des protéines fluorescentes). La difficulté est généralement de construire les outils moléculaires (vecteurs de clonage) appropriés et d'adapter les méthodes de transformation au modèle bactérien utilisé pour obtenir des efficacités suffisantes. Ce verrou technique a été levé au LEMAR, où les mutagenèses et constructions de biorapporteurs sont maintenant réalisées en routine (Delavat *et al.*, 2018).

- Caractérisation du mucus de branchies d'ormeaux : les propriétés rhéologiques (viscosité, élasticité) du mucus seront caractérisées, ainsi que sa composition en macromolécules biologiques (protéines et glycoprotéines) grâce à des techniques de protéomique et de chimie analytique (chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse [LC-MS/MS] ; spectrométrie de masse de type MALDI-ToF). Les équipements et compétences sont disponibles au LBCM et dans le laboratoire du Pr. Allam (Pales Espinosa *et al.*, 2016).
- Étude de la capacité des mutants à adhérer au mucus de branchies d'ormeaux, à former des biofilms, et à infecter les ormeaux : les études d'adhésion et de formation des biofilms seront réalisées dans des chambres de culture en flux (flow cells) et les observations seront effectuées par microscopie confocale à balayage laser. Cette méthodologie de pointe pour l'étude des biofilms est maîtrisée au LBCM, où elle a déjà été appliquée sur d'autres bactéries marines (Rodrigues *et al.*, 2015 ; Doghri *et al.*, 2015) et où des expériences préliminaires sur *V. harveyi* ont été réalisées avec succès pour s'assurer de la faisabilité du projet et vérifier la possibilité de badigeonner les lames de verres des flow cells avec du mucus de branchies d'ormeaux. Les études d'infections d'ormeaux seront réalisées selon une méthodologie maîtrisée au LEMAR, par balnéation dans des bacs (Cardinaud *et al.*, 2014b).
- Effet de la température sur l'expression des gènes clés pour la colonisation des animaux : les bactéries contenant les fusions transcriptionnelles entre les promoteurs des gènes étudiés et des gènes rapporteurs (*gfp*, *mcherry*) seront étudiées à différentes températures par microscopie à épifluorescence à l'échelle de la cellule bactérienne unique et en temps réel lors de l'adhésion et des étapes précoces de développement des biofilms avec et sans mucus de branchies.
- Inhibition ou contrôle du processus de colonisation par l'altérocine : cette protéine anti-biofilm est étudiée au LBCM depuis plusieurs années (Dheilly *et al.*, 2010 ; Jouault *et al.* 2018). L'adhésion de *V. harveyi* et sa culture en biofilms seront réalisées en présence d'altérocine ou de la souche *Pseudoalteromonas* sp. 3J6 productrice d'altérocine comme décrit ci-dessus.

### Références :

- Cardinaud M, Offret C, Huchette S, Moraga D & **Paillard C** (2014a) Fish Shellfish Immunol **36**: 1-8.
- Cardinaud M, Barbou A, Capitaine C, Bidault A, Dujon AM, Moraga D & **Paillard C** (2014b). Appl Environ Microbiol **80**: 6328-6333.
- Davis KM & Isberg RR (2019) Trends Microbiol **27**: 64-74.
- Delavat F, Bidault A, Pichereau V & **Paillard C** (2018) J Microbiol Methods **154**: 1-5.
- Dheilly A, Soum-Soutéra E, Klein GL, Bazire A, Compère C, Haras D & **Dufour A** (2010) Applied Environ Microbiol **76**: 3452-3461.
- Doghri I, Rodrigues S, Bazire A, **Dufour A**, Akbar D, Sopena V, Sablé S & Lanneluc I (2015) BMC Microbiol **15**: 231.
- Jouault A, Gobet A, Simon M, Perennou M, Gaillard F, Corre E, Portier E, Fleury Y, Michel G, Bazire A & **Dufour A** (2018). Présentation orale. 6th International Symposium on Antimicrobial Peptides, Poitiers, June 6-8, 2018.
- Nicolas JL, Basuyaux O, Mazurie J & Thebault A (2002) Dis Aquat Organ **50**: 35-43.
- Pales Espinosa E, Koller A & **Allam B** (2016) J Proteomics **132**: 63-76.
- Rodrigues S, **Paillard C**, Le Pennec G, **Dufour A** & Bazire A (2015) Frontiers Microbiol **6**: 1384.
- Rodrigues S, **Paillard C**, Van Dillen S, Tahrioui A, Berjeaud JM, **Dufour A** & Bazire A (2018) Pathogens **7**: 92.
- Travers MA, Basuyaux O, Le Goic N, Huchette S, Nicolas JL, Koken M & **Paillard C** (2009) Global Change Biol **15**: 1365-1376.

### 3 - Positionnement et environnement scientifique dans le contexte régional, national et international :

- Ce doctorat s'intègre dans un projet régional du CPER, le projet Océanolab sur les ormeaux (2018-2020) (Responsables C. Paillard et S. Roussel), en collaboration régionale avec Dr. Stéphanie AUZOUX-BORDENAVE (MNHN Concarneau), Dr. Sylvain HUCHETTE, SCEA France-Haliotis, 29880 PLOUGUERNEAU, Dr. Sophie MARTIN, UMR 7144 Adaptation et Diversité en Milieu Marin (AD2M), Station Biologique de Roscoff, et en collaboration internationale avec Dr. Philippe DUBOIS, Laboratoire de Biologie Marine, Université Libre de Bruxelles (ULB), B-1050 Bruxelles, Belgique.
- Ce doctorat intégrera une partie de ses recherches dans le projet de prématuration du CNRS « **Vers un cocktail bactérien pour réduire les mortalités en aquaculture** » Comaq » (Porteur Prof. V. Pichereau, 04/2019-10/2020) et pourra appliquer une partie de ses résultats en collaboration avec France Haliotis.

- Au niveau international, l'interaction *Vibrio*-orveau constitue un modèle très étudié depuis 2002 au LEMAR et associe de nombreuses collaborations internationales (C. Friedman, USA ; B. Allam, USA ; Rob Day, Australie). Le(a) Doctorant(e) effectuera un séjour de deux mois dans le laboratoire de B. Allam pour caractériser la spécificité de l'interaction mucus-*Vibrio harveyi*. De plus, les contacts du LBCM avec le Pr. Claus Sternberg (DTU, Danemark) permettront au (à la) doctorant(e) de suivre une formation de niveau mondial (le nombre de participants est très limité) sur les techniques de pointe d'étude des biofilms bactériens et des dernières innovations en ce domaine.

#### **4 - Pour la région Bretagne : adéquation du projet au regard du DIS de rattachement (et/ou du DIS secondaire).**

Ce projet vise à étudier au niveau moléculaire la colonisation d'animaux marins par un pathogène bactérien et à comprendre comment le réchauffement océanique pourrait favoriser le développement d'infections et donc le déclin de populations d'animaux d'intérêt économique. Ce projet aborde principalement des questions fondamentales, mais devrait dégager des perspectives d'applications dans le domaine marin (aquaculture), il s'inscrit donc pleinement dans le sous-domaine 3B « Valorisation de la biomasse marine et biotechnologies (pour toutes les applications) » de la DIS3 « Activités maritimes pour une croissance bleue ». Il contribue de plus à l'étude des impacts des changements (réchauffement climatique) sur les écosystèmes et santé des écosystèmes et s'inscrit donc totalement dans le Thème 4 (l'océan vivant et les services écosystémiques) d'ISblue et plus spécifiquement dans les sous-thèmes « Adaptation, évolution, plasticité, écophysiologie » (Interactions hôtes – pathogènes) et « Biotechnologies » (Biofilms).

**5 - Si « projet blanc » (hors DIS), préciser les raisons de ce choix :** Sans objet

#### **6 - Si lien avec projet ERC, préciser lequel :**

Le projet de thèse s'inscrira en lien avec un financement Boost'ERC (projet SMAQ, porté par Dr. François Delavat, post-doctorant au LEMAR). Ce financement servira à financer l'approche de RNAseq, dont les données seront utilisées par le/la doctorant(e) recruté(e). Ce projet SMAQ permettra la soumission d'un projet ERC Starting Grant par François Delavat en octobre 2019.

#### **7 - Autres informations utiles (CPER, FEDER, concernant la politique régionale) :**

Ce projet de thèse s'intègre en partie au sein du **Projet pilote OCEANOLAB. Orveau et réchauffement climatique. Coordination : C. Paillard et Sabine Roussel en lien avec l'écloserie et nurserie d'orveaux France Haliotis (Contrat de plan État Région CPER 2015-2020)**. Océanolab, c'est la création au sein de l'équipement Océanopolis d'un espace dédié à l'expérimentation en écologie marine couplée à un projet innovant de culture scientifique, conduisant à une association étroite entre recherche et médiation avec production et diffusion de connaissances en sciences et technologies marines en direct. C'est aussi pour le(a) doctorant(e), la possibilité de pouvoir obtenir des orveaux à partir des expérimentations marines sur du long terme (une année) dans d'excellentes conditions (température contrôlée, variations saisonnières des paramètres, ...) et avec des populations naturelles de mollusques originaires d'autres pays. Des prélèvements non létaux de mucus et d'hémolymphe pourront être réalisés sur des orveaux de différentes populations présentant des susceptibilités différentes à *V. harveyi* (les populations de Saint Malo étant résistantes alors que celles de Molène sont sensibles [Dubief *et al.*, 2018]). Les premières installations pour les expérimentations des populations naturelles d'orveaux vont commencer en novembre 2019.

#### **8 - Le cas échéant, précisez le lien du sujet avec les thèmes ISblue**

- la régulation du climat par l'océan
- les interactions entre la Terre et l'océan
- la durabilité des systèmes côtiers
- l'océan vivant et les services écosystémiques :**

**Sous-thème principal : Adaptation, évolution, plasticité, écophysiologie (Interactions hôtes – pathogènes) ; sous-thème secondaire : biotechnologies (Biofilms)**

**Discipline principale : Biologie (microbiologie, omiques, génétique moléculaire, physiologie) ;  
Discipline secondaire : Chimie (chimie analytique)**

- les systèmes d'observation à long terme

Le cas échéant (si financement ISblue demandé) : en regard de la formation par la recherche du futur docteur, **perspectives d'insertion professionnelle dans le milieu académique et non académique**

Ce projet permettra au futur docteur d'acquérir une large palette de compétences dans une variété de domaines de la biologie (microbiologie, biologie moléculaire, microscopie, analyses d'images, analyses bio-informatiques de données génomiques et transcriptomiques, infections d'ormeaux) et d'aborder des techniques de chimie analytique (chromatographie liquide et différents types de spectrométrie de masse). Ces compétences techniques, associées aux compétences généralement développées au cours de la réalisation d'une thèse (analyses bibliographiques, analyses des résultats et formulation d'hypothèses, présentations orales et écrites des travaux) ouvrira au docteur de larges possibilités d'insertion professionnelle, en milieu académique ou non. Le (la) doctorant(e) aura de plus la possibilité d'effectuer des enseignements à l'Université de Bretagne-Sud, qui lui permettront d'acquérir une expérience en enseignement nécessaire en cas de projet d'insertion professionnelle dans le milieu académique en tant que Maître de Conférences.

### **9 - Contexte scientifique et partenarial : éléments généraux**

Ce projet de thèse repose principalement sur un partenariat inter-établissements entre deux laboratoires de l'IUEM et de l'Ecole Universitaire de Recherche (EUR) ISblue : le LBCM, Université de Bretagne-Sud (Pr. Alain Dufour) et le LEMAR, Université de Bretagne Occidentale (Dr. Christine Paillard). Les deux porteurs du projet ont déjà fait preuve de leur capacité à travailler ensemble, en codirigeant une thèse (S. Rodrigues, 2001-14) portant sur un autre modèle d'interaction hôte-pathogène (palourde-*V. tapetis*) et en valorisant ces recherches par la co-publication de 3 articles scientifiques et par 7 communications dans des congrès internationaux. Le présent projet permettra de poursuivre cette fructueuse collaboration et de renforcer les liens entre ces deux laboratoires. Les autres partenaires du projet sont au niveau local, le Dr. Sylvain Huchette et, au niveau international, le Pr. Bassem Allam :

- Dr. Sylvain HUCHETTE, SCEA France-Haliotis, 29880 PLOUGUERNEAU

L'ormeau est un mollusque gastéropode d'intérêt économique, très recherché pour sa chair et sa coquille nacrée, et son élevage est actuellement en plein essor en France. L'écloserie France-Haliotis est une ferme aquacole en pleine expansion qui produit des juvéniles de haute qualité pour la restauration. L'écloserie maîtrise tous les stades du développement de l'ormeau Européen et est impliquée dans de nombreux programmes scientifiques au sein duquel le LEMAR est associé en particulier les projets Océanolab (projet CPER 2019-2020) et ICOBIO (projet FRB 2018-2020) où des travaux sur la croissance, la sélection génétique, le comportement, la pathologie et la biominéralisation de l'ormeau sont en cours.

- Pr. Bassem ALLAM, Directeur du Marine Disease Animal Laboratory, Stony Brook University

Une collaboration fructueuse existe de longue date entre C. Paillard du LEMAR et Bassem Allam, laquelle a déjà donné lieu à 10 publications entre 1996 et 2014. Ce projet nouveau sur la caractérisation du mucus permettrait de renouveler cette collaboration fructueuse qui réunit l'expertise de spécialistes pour étudier les mécanismes cellulaires et moléculaires des interactions entre les bivalves et leurs agents pathogènes. Cette approche collaborative facilitera grandement l'échange d'étudiants sur ce projet, en effet le(a) Doctorant(e) pourra ainsi effectuer un séjour de deux mois dans ce laboratoire pour caractériser la spécificité de l'interaction mucus-*V. harveyi*.

### **10 - Si projet de co-tutelle, internationale, précisez le pays et l'établissement**

Sans objet

### **11 - Financements Région Bretagne acquis par le porteur au cours des 3 dernières années (titre, montant)**

2016 : ARED 50%. Doctorante : Albane Jouault. Altérocline et stratégies anti-biofilms. Soutenance prévue : Septembre 2019.

### **12 - Si projet cofinancé, nom du cofinancier (sollicité et ou acquis)**

Projet Boost'ERC (Porteur François Delavat, 01/2019-09/2019). Doté de 20 k€, ce projet permettra de financer l'expérience de RNAseq, dont les résultats seront utilisés par le/la doctorant(e) recruté(e).



Projet de prématuration du CNRS « Comaq » (Porteur Prof. V. Pichereau, C. Paillard, DR1 et F. Delavat, Post doc Labexmer ISblue et A. Bidault, AI, 04/2019-10/2020). Doté de 120 k€, ce projet permettra de financer les expériences de biologie moléculaires (constructions des mutants et des biorapporteurs), de microscopie à épifluorescence, et d'infections *in vivo* au LEMAR

Projet Ec2CO « VIVIMAR » (Porteur Prof. V. Pichereau, projet soumis fin 2018). Ce projet permettra de financer les expériences de biologie moléculaire et les suivis de formation de biofilm par microscopie confocale, ainsi que les déplacements (colloques) du/de la doctorant(e) recruté(e).

### **13 - Autres sources de cofinancement identifiées**

Des demandes de financement seront déposées en réponses aux futurs appels à projets d'ISblue, de l'IUEM et/ou de l'UBS, notamment pour financer la mobilité du (de la) doctorant(e) dans le laboratoire de B. Allam aux USA.

#### **Le – la candidat.e**

Profil souhaité du candidat (compétences scientifiques et techniques requises) :

Le (la) candidat(e) devra posséder une solide formation en microbiologie et biologie moléculaire. Des compétences sur les biofilms seraient un avantage, mais elles ne sont pas indispensables, puisque le LBCM pourra former l'étudiant(e) en ce domaine.

#### **Projet de thèse en cotutelle internationale**

**S'agit-il d'un projet de thèse en cotutelle internationale (oui/non) : non**

**Si oui, préciser l'établissement pressenti (et le pays de rattachement) :**

**Ce projet de thèse fera-t-il l'objet d'un cofinancement international (oui/non) : non**

*(Rémunération du doctorant par l'établissement implanté sur le territoire régional (18 mois sur 36 mois), et l'établissement étranger, qui s'engage également à rémunérer le doctorant dans le cadre de son séjour à l'étranger, soit durant 18 mois -a minima-)*

**En cas de cofinancement international, préciser -si vous en avez connaissance- l'organisation du calendrier des périodes de séjour :**

#### **Financement du projet de thèse**

**Part de l'enveloppe financière régionale affectée au projet :**

Financement Région 100 %

Financement Région 50 % (préconisé)

**En cas de financement à 50 %, le cofinancement est-il déjà identifié (oui/non) : oui**

**Si oui, préciser la nature du cofinancement (ANR, partenaire privé, Ademe, etc.) : CNRS, demande de la co-directrice de thèse, Dr. Christine Paillard, validée par le LEMAR.**

**Si le cofinancement n'est pas encore confirmé, date prévue de réponse du cofinancier : date non connue**

**En cas de non-obtention du cofinancement demandé, une autre source de cofinancement est-elle identifiée (oui/non) : oui : ISblue ou CDE UBS ou CDE UBO**