

Proposition de sujet de thèse 2025

(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 *:

Encadrant(s), nom, prénom, adresse mail *: *BLANC Guillaume*
guillaume.blanc@mio.osupytheas.fr

Laboratoire *: MIO

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*	
Encadrants (2 max, indiquer si HDR ou pas)*	Guillaume Blanc, HDR
Laboratoire*	MIO
Programme finançant la recherche (indiqué si obtenu ou envisagé) (1)	Transivir (ITEM 2023-2025 - 30K€) VIROPICO (EC2CO 2025-2026 – 28 k€)

Sujet de doctorat proposé*

Intitulé* : **Interactions Phytoplancton-Virus dans les lagunes méditerranéennes**

Descriptif *:

Contexte et finalité des travaux

Nos recherches explorent les interactions phytoplancton-virus dans les lagunes méditerranéennes, des écosystèmes vulnérables aux perturbations. Les virus régulent les populations planctoniques, dont *Picochlorum*, une microalgue impliquée dans les marées vertes nuisibles dans ces environnements. Nous étudions la diversité, la physiologie et la dynamique de ces interactions afin d'anticiper leur réponse aux perturbations climatiques et anthropiques, et pour mieux comprendre leur impact écologique.

Résumé de la thèse

La thèse combine la culture cellulaire, l'analyse métagénomique et le développement d'une approche innovante basée sur le séquençage « long-read » pour explorer la diversité et la dynamique d'espèces phytoplanctoniques cibles et de leurs virus dans l'étang de Berre.

Quel est l'état de l'art du sujet de la thèse ?

Les microalgues sont essentielles aux écosystèmes aquatiques, formant la base des chaînes trophiques et participant aux cycles biogéochimiques (3). Leurs populations sont en partie régulées par des virus (1), mais l'impact du changement climatique sur ces interactions reste méconnu. Pour adresser cette question, nous étudions les virus de l'étang de Berre, en particulier le couple *Picochlorum-Picochlorovirus* que nous développons en pathosystème modèle représentatif des lagunes. *Picochlorum*, une algue verte à croissance rapide et tolérante aux variations environnementales (4), est responsable de marées vertes menaçant biodiversité et conchyliculture des lagunes (2). Nous avons isolé *Picochlorum* sp. PicoA et séquencé son génome (14 Mb diploïde, ~8000 gènes). Nos travaux ont permis la découverte de nouveaux virus, baptisés *Picochlorovirus*, qui provoquent une mortalité massive des *Picochlorum* (5). Huit souches ont été isolées, et nous analysons leur mécanisme infectieux en laboratoire.

Descriptif détaillé des travaux

Pour faire progresser nos recherches, nous souhaitons (i) explorer la diversité et la dynamique de *Picochlorum* et de ses virus en milieu naturel et (ii) tester si leurs interactions sont modulées par les facteurs environnementaux affectés par le réchauffement climatique. Pour cela, le doctorant développera 3 axes de recherche interconnectés.

WP1 : Impact de la Salinité et de la Température sur l'interaction *Picochlorum*-virus

Grâce à une approche combinant cultures cellulaires, cytométrie en flux et qPCR, le doctorant examinera en laboratoire l'impact de la salinité et de la température sur la croissance des populations de *Picochlorum* et sur la réplication des *Picochlorovirus*. Ces deux facteurs varient fortement dans les lagunes méditerranéennes, influencés par les saisons et les perturbations climatiques telles que les vagues de chaleur et les sécheresses. Cette étude reposera sur l'évaluation de paramètres clés de l'infection, notamment :

- Le rendement viral (burst size, nombre de particules virales libérées par cellule)
- La période de latence (intervalle entre l'infection et la libération des virions)
- L'infectiosité des virions nouvellement produits

En explorant ces interactions à travers le modèle *Picochlorum-Picochlorovirus*, cette recherche vise à mieux comprendre les mécanismes fondamentaux par lesquels les virus régulent les populations algales et influencent les dynamiques de prolifération. Les résultats obtenus contribueront à anticiper l'impact des changements climatiques sur les interactions virus-algues.

Enfin, le doctorant confrontera ses résultats expérimentaux aux observations in situ, en comparant les

conditions optimales de salinité et de température pour l'infection virale déterminées en laboratoire avec celles enregistrées dans l'Étang de Berre lors des pics d'abondance virale et le déclin de *Picochlorum* (WP2). Cette approche permettra d'évaluer la transposabilité des résultats expérimentaux aux écosystèmes naturels.

WP2 : Diversité et dynamique des interactions hôtes-virus dans l'étang de Berre

Le doctorant analysera une série d'échantillons hebdomadaires collectés dans l'Étang de Berre sur 46 semaines en 2024 dans le cadre de la campagne TRANSIVIR. Ces échantillons, préalablement fractionnés par filtration pour séparer les communautés microbiennes et virales, feront l'objet des analyses suivantes, réalisées et/ou coordonnées par le doctorant :

- Extraction et préparation des ADN microbien et viral avec l'aide de notre ingénieure en biologie moléculaire
- Séquençage (Illumina) des régions V3-V4 du gène 18S sur l'ADN de la fraction microbienne (par prestataire)
- Séquençage (Illumina) métagénomique shotgun des ADNs métagénomiques de la fraction virale (prestataire)
- Analyse physico-chimique des échantillons (sels nut., chlorophylle) via la plateforme PACEM (MIO) en plus des paramètres déjà mesurés sur site (pH, T°C, salinité).

Les données générées seront ensuite analysées par le doctorant à l'aide d'approches bioinformatiques, en s'appuyant sur des pipelines développés par l'équipe, qu'il adaptera et optimisera pour ses propres analyses. Les codes-barres 18S et le métagénomes permettront d'évaluer la biodiversité et la dynamique des micro-eucaryotes et des virus, respectivement, dans les échantillons.

Analyse des codes-barres 18S : Les séquences brutes (reads pairés 2 x 300 bp) seront traitées avec Cutadapt et DADA2 sous R pour générer des amplicon sequence variants (ASV), qui seront ensuite classifiés taxonomiquement à l'aide de la base de données PR2.

Analyse des métagénomes viraux. Les séquences brutes (reads pairés 2 x 150 bp) seront nettoyées avec Fastp, assemblées avec Megahit, regroupées en génomes (Metagenome-Assembled Genomes, MAGs) via VAMB, classifiées taxonomiquement à l'aide de recherches de similarité dans la base de données TrEMBL et d'analyses phylogénétiques. Finalement, les virus identifiés seront quantifiés par la méthode du RPKM après alignement des reads sur les contigs viraux

Intégration de données : Les diversités micro-eucaryote et virale, leurs dynamiques ainsi que les paramètres physico-chimiques seront analysés par des approches multivariées (ACP, CCA) afin d'identifier les principaux facteurs biotiques et abiotiques influençant les interactions entre les *Picochlorum* et leurs virus. Avec ces mêmes données le doctorant cherchera à identifier de nouveaux couples hôte-virus potentiels (i.e., hors *Picochlorum-Picochlorovirus*) en s'appuyant sur des approches de co-occurrence, permettant ainsi de généraliser notre étude à d'autres interactions hôte-virus.

WP3 : Développement d'un Code-Barres Génétique long-read pour étudier la micro-diversité du genre *Picochlorum*

Actuellement, les séquences de neuf génomes de *Picochlorum spp.*, couvrant la diversité du genre, sont disponibles dans les bases de données. En comparant ces séquences à l'aide d'outils bioinformatiques de recherche de similarité (BLASTN, MAUVE, KMER), le doctorant identifiera des régions génomiques universellement conservées, qui serviront de cibles pour la conception d'amorces spécifiques. Celles-ci permettront d'amplifier des fragments génomiques orthologues à travers l'ensemble du genre *Picochlorum*.

L'objectif est de développer des codes-barres génétiques *pan-Picochlorum* de grande taille (1–10 kb), surpassant en résolution les marqueurs classiques comme le gène 18S utilisé dans le WP2 (~450 bp). En

intégrant à la fois des régions conservées et variables, ces nouveaux codes-barres offriront une meilleure discrimination taxonomique, permettant une caractérisation fine de la microdiversité au sein du genre *Picochlorum* (espèces et sous-espèces).

Les amorces conçues seront d'abord testées par PCR sur des ADN extraits d'une collection de cultures de *Picochlorum*, ainsi que sur des échantillons tests prélevés dans l'Étang de Berre. Les amplicons test obtenus seront séquencés à l'aide du séquenceur long-read GridION (Nanopore) du laboratoire. Une fois la méthode validée, elle sera appliquée aux échantillons de la campagne TRANSIVIR afin d'établir une cartographie détaillée de la microdiversité génétique de *Picochlorum* dans l'Étang de Berre. Les algues de l'étang seront représentées et classifiées au sein du genre à l'aide d'approches phylogénétiques. Ces données viendront compléter les résultats obtenus via le gène 18S et seront intégrées aux analyses multivariées du WP2. Elles permettront d'examiner comment la microdiversité des *Picochlorum* fluctue et corrèle avec celle des *Picochlorovirus* dans l'étang de Berre (i.e., 8 génotypes viraux déjà isolés mais beaucoup plus mis en évidence par métagénomique (5)), afin d'identifier des interactions spécifiques entre virus et sous-espèces par des approches de co-occurrence.

Ce développement méthodologique constituera un outil précieux pour l'étude de la diversité et de la dynamique des *Picochlorum*. Son approche générique, adaptable à d'autres espèces, pourra être déployée plus largement et inspirer de nouvelles recherches au sein de la communauté scientifique.

Détail du Programme finançant la recherche* :

Les frais de fonctionnement nécessaires à ce projet doctoral sont entièrement couverts par les financements des projets TRANSIVIR¹ et VIROPICO², coordonnés par le directeur de thèse. Ces deux projets successifs sont directement reliés à la problématique.

¹ TRANSIVIR : « Interactions algue-virus dans la transition environnementale méditerranéenne. » Financement de l'Institut Méditerranéen pour la Transition Environnementale, 2023-2025 – 30 K€

² VIROPICO : « Vers une compréhension holistique de l'interaction entre la microalgue *Picochlorum* et ses virus : dynamique populationnelle et développement d'outils moléculaires. » Financement EC2CO de l'INSU-CNRS, 2025-2026 – 28 K€

Directeur(s) de thèse proposé(s)*

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

Directeur HDR proposé*

Nom - Prénom : BLANC Guillaume

Corps : DR CNRS

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

Adresse mail : guillaume.blanc@mio.osupytheas.fr

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

En vert, les noms de mes précédents doctorants

A high rate algal pond hosting a dynamic community of RNA viruses. Chase , Monteil-Bouchard , Gobet , Andrianjakarivony, Desnues* and Blanc*, Viruses. (2021) 13(2), 148 *: corresponding author

Diversity of Giant Viruses Infecting Vermamoeba vermiformis. Geballa-Koukoulas, Blanc, La Scola and Andreani, Front. Microbiol. (2022) 13:808499

Integrated viral elements suggest the dual lifestyle of Tetraselmis spp. polinton-like viruses. Chase , Desnues and Blanc*, Virus Evolution. (2022) 13(2), 148 *: corresponding author

Exploring the influence of fertilization on bacterial community fluctuations in Ulva cultivation. Estoup , Gernigon, Avouac, Blanc*, Gobet*. Algal Research. (2024) 82, 103688 *: corresponding authors

Viral dynamics in a high-rate algal pond reveals a burst of Phycodnaviridae diversity correlated with episodic algal mortality. Chase , Pitot, Bouchard, Triplet, Przybyla, Gobet, Desnues and Blanc*, mBio. (2024) 11;15(12):e0280324

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

Nom : Paul Estoup

Intitulé : Etude des composantes microbienne et virale au sein de l'holobionte Ulve dans un contexte d'aquaculture

Type d'allocation : Région SUD

Date de début de l'allocation de doctorat : 2022

Date de soutenance (si la thèse est soutenue) : 2025

Programme finançant la recherche : HOLOGREEN (REGION)

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

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

Nom : Florian Thiriot

Intitulé : Metagenomic and transcriptomic study of diatom RNA viruses

Type d'allocation : ANR

Date de début de l'allocation de doctorat : 2024

Date de soutenance (si la thèse est soutenue) :

Programme finançant la recherche : ANR BONUS

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

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