



**HAL**  
open science

# Communautés fongiques associées aux déchets plastiques marins et évaluation de leur potentiel en bioremédiation

Aurélie Philippe

## ► To cite this version:

Aurélie Philippe. Communautés fongiques associées aux déchets plastiques marins et évaluation de leur potentiel en bioremédiation. Microbiologie et Parasitologie. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2024. Français. NNT : 2024BRES0021 . tel-04913332

**HAL Id: tel-04913332**

**<https://theses.hal.science/tel-04913332v1>**

Submitted on 27 Jan 2025

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THESE DE DOCTORAT DE

## L'UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE

ECOLE DOCTORALE N° 600  
*Ecologie, Géosciences, Agronomie, Alimentation*  
Spécialité : *Microbiologie*

Par

**Aurélie PHILIPPE**

## Communautés fongiques associées aux déchets plastiques marins et évaluation de leur potentiel en bioremédiation

Thèse présentée et soutenue à Plouzané, le 5 avril 2024

Unité de recherche : Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne (UR 3882 / USC  
INRAE 1504)

### Rapporteurs avant soutenance :

Joëlle DUPONT

Professeure des Universités, UMR 7205, Muséum National d'Histoire Naturelle, ISYEB, Paris

Robert DURAN

Professeur des Universités, UPPA/E2S, IPREM CNRS, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau

### Composition du Jury :

**Président :** Joëlle DUPONT

Professeure des Universités, UMR 7205, Muséum National d'Histoire Naturelle, ISYEB, Paris

**Examineurs :**  
Ika PAUL-PONT

Chargée de recherche, UMR 6539, CNRS, LEMAR, Université de Bretagne Occidentale, Plouzané  
Maître de Conférences, EA 4323, MAPIEM, Université de Toulon, Toulon

Jean-François BRIAND

**Rapporteurs :**  
Joëlle DUPONT

Professeure des Universités, UMR 7205, Muséum National d'Histoire Naturelle, ISYEB, Paris

Robert DURAN

Professeur des Universités, UPPA/E2S, IPREM CNRS, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau

**Dir. de thèse :** Gaëtan BURGAUD

Maître de Conférences, UR 3882 LUBEM, Université de Bretagne Occidentale, Plouzané

**Co-dir. de thèse :** Emmanuel COTON

Professeur des Universités, UR 3882 LUBEM, Université de Bretagne Occidentale, Plouzané



## Remerciements

Je tiens dans un premier temps à remercier chaleureusement les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Merci à Joëlle Dupont et Robert Duran d'avoir accepté d'être rapporteurs, ainsi qu'à Ika Paul-Pont et Jean-François Briand d'avoir accepté d'être examinateurs de ces travaux de thèse.

Je tiens à remercier le Pr. Emmanuel Coton, directeur du LUBEM, de m'avoir permis de réaliser cette thèse au sein du laboratoire. Emmanuel, je tiens également à vous remercier plus personnellement comme codirecteur de cette thèse, pour votre soutien tout au long de ce projet. Merci pour vos conseils avisés et votre engagement qui ont grandement contribué au bon déroulement de cette thèse. Merci pour votre humour.

Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements à mon directeur de thèse, Gaëtan Burgaud pour m'avoir permis de réaliser ces travaux de thèse dans le cadre de son projet de recherche. Gaëtan, merci pour ton accompagnement exceptionnel tout au long de mon parcours de thèse. Sans ton expertise, ta disponibilité et ton soutien, rien de tout cela n'aurait été possible. Merci pour ton dévouement sans faille, nécessaire pour surmonter les obstacles. J'ai sincèrement apprécié de travailler à tes côtés, tant pour ton partage de la passion pour la recherche que pour ta personnalité, tes valeurs humaines et ton humilité. Tu es un excellent directeur de thèse, et ce, toujours avec le sourire.

Un grand merci à vous deux pour votre patience, vos encouragements et votre confiance. Je suis profondément reconnaissante de l'opportunité qui m'a été donnée de travailler sous votre direction. Merci d'avoir su m'orienter vers les questionnements pertinents tout au long de ce projet.

Je tiens par la suite à remercier les membres de mon comité de suivi individuel pour votre contribution dans la validation de mon projet de recherche et dans l'évaluation de sa progression. Jean-François Briand, c'est un plaisir, après avoir communiqué avec vous de mes résultats lors de ces réunions, que vous soyez à présent l'examineur de ce manuscrit. Nicolas Ruiz, merci pour ton expertise et ces discussions enrichissantes concernant mon projet. Merci pour votre disponibilité.

Je tiens à remercier également Ika Paul-Pont, Camille Lacroix, Anne-Laure Cassonne, Jean-François Ghiglione, Jean-François Briand, Boris Eyheraguibel et, Kévin Tallec. Merci pour ces collaborations sans lesquelles ma thèse n'aurait pas été si enrichissante.

Merci également à Cendrine Mony et Philippe Vandenkoornhuyse de m'avoir accueillie dans votre laboratoire pour cette formation sur les réseaux de cooccurrence, merci à Paola pour ton accompagnement et ta gentillesse,

Un grand merci également à Cyril Noël. Encore merci pour m'avoir accompagnée de mon stage de Master2 jusqu'à aujourd'hui. Tu as été essentiel. Sans toi, je n'en serais pas là aujourd'hui. Tu m'as soutenue et accompagnée depuis maintenant presque quatre ans. Merci d'avoir toujours été là.



Merci aux personnels administratifs, Zindy, Anne-Cécile, Sophie, Cathy et Céline, pour votre sympathie et votre bonne humeur.

Merci aux membres du LUBEM, Laurence, Amélie, Monika, Adeline, Nolwenn, Flora, Marie-Elisabeth, Valérie, Jérôme, Jean-Luc, Franck, Karim, Patrice. Laurence, un énorme merci pour tout ce que tu as fait pour moi le long de ces trois années. Merci pour ton partage de connaissances, ça a été un plaisir de travailler avec toi. Merci pour tous ces bons moments également, merci pour ta gentillesse, ta bienveillance et ton affection. Merci Amélie pour ton accompagnement dans la mise en collection.

Un énorme merci à Sylvie, Stella, Audrey, Elisabeth, Christophe et Clément. Audrey, merci pour ton rire si communicatif. Sylvie, Stella et Christophe, merci pour votre aide si précieuse et indispensable. Merci Marielle, la maman des doctorants, pour ton accompagnement et ta grande bienveillance.

Merci à tous pour votre bonne humeur.

Merci aux stagiaires que j'ai eu le plaisir d'encadrer, Lola et Marie. Un grand merci en particulier à Marie, pour ton sérieux, qui a permis à cette thèse une très belle avancée. Tu as été un atout précieux. Je vous souhaite le meilleur pour la suite.

Merci à Marie, Océane, Charlotte, Amandine, Claire, Nolwenn, Gwennina, Toan, Ewen, Steven, Adrien, Romain, Nicolas et Damien. Quelle joie de vous avoir tous rencontré. Marie, Amandine, merci d'avoir été les meilleures collègues de bureau. Marie, tu es formidable et tu as été d'un soutien indispensable. Et toi, Océane, je n'aurais pas pu rêver mieux comme voisine de bureau. Claire, quelle belle découverte. Ewen, merci pour ces longues discussions et ces beaux moments partagés avec toi. Nolwenn, ne lâche rien, tu es une femme forte et une maman extraordinaire. Steven, Nicolas, Damien et Adrien, merci d'avoir été là également, merci pour ces fous rires, indispensables pendant ces trois années, vous êtes chacun incroyable à votre façon.

Steven, toi que j'adore embêter, même si tu me le rends bien. J'ai une pensée également pour toi Mélanie, une amie aujourd'hui. Tu es une si belle personne, merci pour tout et vivement les prochaines retrouvailles.

Une pensée particulière à mon doudou, mon kiki et ma Chacha. Plus que de simples collègues, vous êtes devenues de véritables amies. Je n'aurais pas pensé rencontré de si belles personnes, et créer encore aujourd'hui de si beaux liens d'amitié. Merci pour ces journées, ces soirées, ces fous rires à n'en plus finir, ces si bons moments de complicité en votre compagnie. Merci pour tout. Sans vous, cette thèse n'aurait pas eu la même saveur. Merci d'avoir été des incroyables collègues et d'être les amies merveilleuses que vous êtes. Je suis convaincue que notre amitié continuera à prospérer même au-delà de cette thèse.

France, ou plutôt ma Francette, la petite dernière. Tu es d'une telle joie de vivre, merci pour ta folie. Tu nous manques, profite à fond du Canada, et on attend avec impatience ton retour, À vous tous, je ne vous oublierai jamais. Je remercie la thèse de vous avoir mis sur mon chemin. Je suis si reconnaissante. Vous m'avez tous beaucoup apporté.

À celles arrivées plus tard, Charlène, Charlotte et Mélanie, merci pour votre gentillesse et vos sourires au quotidien.

Merci aux post-doctorants, Beatriz et Maxence. Beatriz, merci pour ton sourire, ta joie de vivre et ces joyeux moments passés en ta compagnie. Maxence, merci pour ton expérience, toujours avec une touche d'humour.

Enfin, je tiens de nouveau à exprimer ma gratitude envers toute l'équipe du laboratoire pour son accueil chaleureux, son expertise partagée et sa camaraderie, qui ont enrichi mon expérience de recherche. Je vous souhaite à tous le meilleur.

Mes chères meilleures amies, Ornella, Mathilde et Audrey. Vous avez toujours répondu présentes à chacun de mes retours, vous avez toujours été là pour moi. Votre soutien et votre amour ont été essentiels dans cette thèse. Merci pour votre présence dans ma vie. En dépit de ces centaines de kilomètres, notre amitié reste magnifique. À nos prochaines aventures. Vous êtes ma famille.

À ce moment précis où j'écris, je pense fort à toi ma louloute dans ce moment si difficile que tu traverses.

Ma Clémence, plus de vingt d'amitié, presque 30, tu es bien plus qu'une amie pour moi, tu es ma sœur de cœur. Que dire de plus, mise à part que j'ai hâte de te revoir,

A vous toutes, merci d'être les incroyables femmes que vous êtes, merci d'avoir toujours été là pour moi, et merci d'être mes meilleures amies, avec tout mon amour, merci.

Pour finir, merci à ma famille,

Maman, Papa, je tiens à vous remercier pour votre dévouement, votre soutien inconditionnel et votre amour sans limite, vous m'avez encouragée à poursuivre mes rêves et à croire en moi-même, merci pour tout ce que vous avez fait et continuez de faire pour moi, je vous en serais éternellement reconnaissante, je vous aime.



## Sommaire

Liste des abréviations .....	8
Glossaire .....	9
INTRODUCTION .....	11
Liste des illustrations .....	12
Liste des tableaux .....	15
I. Les plastiques : production et typologie .....	17
II. Pollution plastique et ses impacts .....	47
III. Plastiques et environnement .....	87
RESULTATS.....	147
Chapitre I – Diversité et dynamique fongiques lors de l’immersion à long terme de plastiques conventionnels et biodégradables dans l’environnement marin .....	149
I- Préambule .....	151
II- Article scientifique publié dans le journal <i>Diversity</i> .....	154
Chapitre II - Colonisation et potentiel de biodégradation des communautés fongiques sur le polystyrène immergé par rapport aux plastiques biodégradables : Une étude de séries emporelles dans l'environnement d'une marina .....	193
I- Préambule .....	198
II- Article scientifique à soumettre dans le journal <i>Journal of Fungi</i> .....	198
Chapitre III- Investigation exploratoire du génome de <i>Zalerion Maritima</i> ATCC 34329 .....	257
I- Préambule .....	259
II- Article scientifique à soumettre .....	261
DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES .....	287
ANNEXES.....	318
VALORISATIONS SCIENTIFIQUES .....	332
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	342

## Liste des abréviations

**AGEC** : Anti-Gaspillage pour une Économie Circulaire

**ARNr 18S** : *18S ribosomal RNA* / ARN ribosomique 18S

**ASV** : *Amplicon sequence variant* / Variant de séquence d'amplicon

**BP** : *Bisphenols* / Bisphénols

**COVID** : *Coronavirus Disease* / Maladie à coronavirus

**EPS** : *Extracellular polymeric substances* / Substances polymériques extracellulaires

**FTIR** : *Fourier-transform infrared spectroscopy* / Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

**GES** : *Greenhouse gas* / Gaz à Effet de Serre

**ITS** : *Internal transcribed spacer* / Espaceur interne transcrit

**MAG** : Métagenome-Assembled Genomes / Génomes assemblés par métagénome

**Mt** : *Million tons* / Millions de tonnes

**OTU** : *Operational taxonomic unit* / Unité taxonomique opérationnelle

**PA** : *Polyamides* / Polyamides

**PAE** : *Phthalate acid esters* / Esters de phtalate

**PBAT** : *Polybutylene adipate terephthalate* / Polybutylène adipate téréphtalate

**PBDE** : *Polybrominated diphenyl ethers* / Polybromodiphényléthers

**PBS** : *Polybutylene succinate* / Poly(succinate de butyle)

**PE** : *Polyethylene* / Polyéthylène

**PE-HD** : *High-density polyethylene* / Polyéthylène haute densité

**PE-LD** : *Low-density polyethylene* / Polyéthylène basse densité

**PET** : *Polyethylene terephthalate* / Poly(téréphtalate) d'éthylène

**PFAS** : *Per- and polyfluoroalkyl substances* / Per- et polyfluoroalkylés

**pH** : *Potential of hydrogen* / Potentiel hydrogène

**PHA** : *Polyhydroxyalkanoates* / Polyhydroxyalcanoates

**PhAC** : *Polyhydroxyalkanoate synthase*

**PHB** : *Polyhydroxybutyrate* / Poly( $\beta$ -hydroxybutyrate)

**PLA** : *Poly(lactic acid)* / Acide polylactique

**PMMA** : *Poly(methyl methacrylate)* / Poly(méthacrylate de méthyle)

**POA** : *Advanced oxidation Processes* / Processus d'Oxydation Avancés

**POP** : *Persistent organic pollutants* / Polluants organiques persistants

**PP** : *Polypropylene* / Polypropylène

**PS** : *Polystyrene* / Polystyrène

**PUR** : *Polyurethane* / Polyuréthane

**PVC** : *Polyvinyl chloride* / Poly(chlorure de vinyle)

**TCA** : *Tricarboxylic acid* / Acide tricarboxylique

**UV** : *Ultraviolet* / Ultraviolet

## Glossaire

*Les mots définis seront annotés d'un astérisque\*.*

**Biofouling** : Accumulation indésirable de matériel biologique sur les surfaces artificielles.

**Cristallinité** : Décrit l'alignement des chaînes du polymère comme étant hautement ordonné (plus cristallin) ou moins structuré (amorphe).

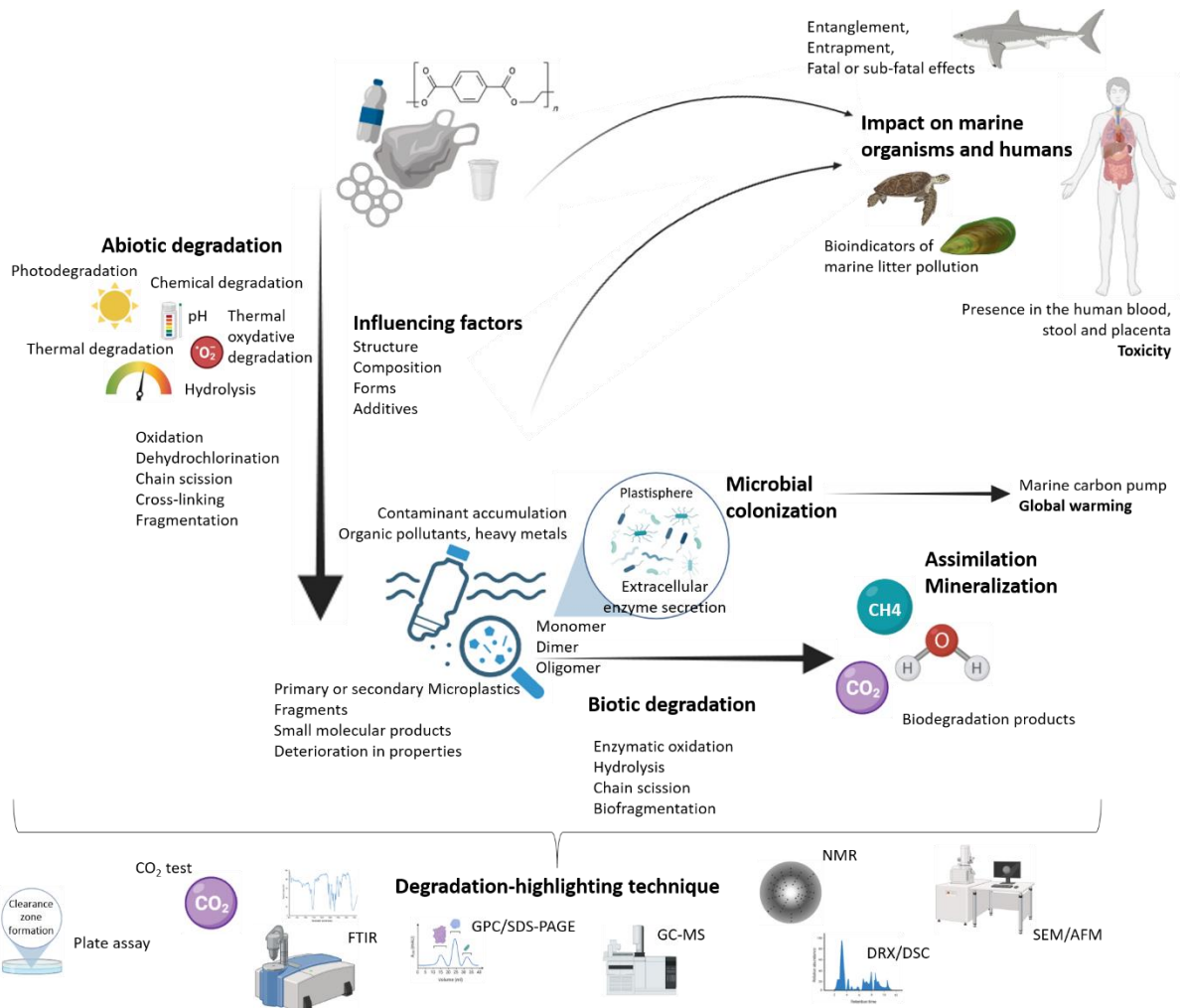
**Densité d'un corps** : Rapport de sa masse volumique à la masse volumique d'un autre corps pris comme référence.

**Ductile** : Qui peut être allongé, étendu, étiré sans se rompre.

**Economie circulaire** : L'économie circulaire est un nouveau modèle économique visant à prévenir la pénurie de ressources, à favoriser la réutilisation de l'énergie et des matériaux, et à promouvoir le développement durable. Elle s'applique à différentes échelles, des entreprises et des consommateurs aux acteurs économiques interconnectés, jusqu'aux villes, régions et gouvernements, représentant ainsi un changement majeur dans la relation de la société humaine avec la nature.

**Microplastiques primaires** : Petites particules de matière plastique fabriquées intentionnellement, entre autres en vue d'être ajoutées à un produit, par exemple particules abrasives utilisées en cosmétique

**Microplastiques secondaires** : Petites particules de matière plastique se formant pendant l'utilisation et l'élimination de produits en plastique (p. ex. abrasion de pneus de voitures, arrachement de fibres lors du lavage de textiles synthétiques) ou suite à la décomposition de macroplastiques en microplastiques.



**Résumé Graphique : Microplastiques : cycle de vie, impacts sur l'environnement et la santé humaine, et méthodes de détection du potentiel de dégradation par les micro-organismes**

## **INTRODUCTION**



## Liste des illustrations

Figure 1. Production mondiale de plastique par année depuis le début de la production commerciale de plastique en 1950 (Plastics Europe 2022).....	16
Figure 2. Capacités de production mondiale de bioplastiques de la nouvelle économie (IfBB - Institute for bioplastics and biocomposites 2022). .....	18
Figure 3. Projection de la production mondiale de polymères biodégradables (PBAT, PBS, PLA, PHA, starch blends, regenerated cellulose, others biodegradable) vs. polymères biosourcés mais non biodégradables en 2027 (bio-PET, bio-PE, bio-PA, bio-PP, bio-PTT, PEF, other non-biodegradable) (European bioplastics 2022). .....	20
Figure 4. Capacités de production mondiale de bioplastiques de la nouvelle économie en 2022 (IfBB - Institute for bioplastics and biocomposites 2022). .....	20
Figure 5. Économie linéaire vs. économie circulaire (Unterfrauner <i>et al.</i> 2017).....	22
Figure 6. Catégories de plastiques en fonction de leurs matière première et biodégradabilité (adapté des bioplastiques européens et mise à jour (Di Bartolo <i>et al.</i> 2021).....	34
Figure 7. Processus d'altération de particules plastiques. L'altération se déroule selon deux voies co-occurentes et synergiques : la fragmentation et la libération de substances chimiques, d'une part, et l'encrassement biologique et l'oxydation, d'autre part (MacLeod <i>et al.</i> 2021).....	42
Figure 8. Sources des microplastiques primaires et secondaires. Modifié (Acarer 2023).....	42
Figure 9. Rejets mondiaux de microplastiques dans les océans du monde : sources primaires et secondaires (en millions de tonnes). Les scénarios de rejets estimés dans les océans sont compris entre optimiste et pessimiste (Boucher & Friot 2017).....	44
Figure 10. Part des déchets plastiques mondiaux rejetés dans l'océan en 2019 (Meijer <i>et al.</i> 2021). 50	
Figure 11. Matériau, type de plastique et origine probable des déchets collectés dans sept grands types d'habitats aquatiques à l'échelle mondiale (Morales-Caselles <i>et al.</i> 2021). .....	54
Figure 12. Estimation du nombre de particules plastiques en milieu océanique, du microplastiques aux macroplastiques (Cressey 2016).....	56
Figure 13. Sites de prélèvement où la densité de microplastiques a été déterminée (Eriksen <i>et al.</i> 2014). .....	58
Figure 14. Exemples d'enchevêtrement en Nouvelle-Zélande : (a) Karoro (goéland brun, <i>Larus dominicanus</i> ) capturé et accroché à un filament de pêche en nylon; (b) une otarie à fourrure néo-zélandaise piégée dans un filet abandonné et (c) Ghost fishing - engins de pêche abandonnés dragués à plus de 100 m de profondeur sur le plateau d'Otago (Gregory 2009). .....	66

Figure 15. Nombre d'études publiées et évaluées par des pairs qui ont examiné les effets de la pollution plastique (enchevêtrement et ingestion) sur les mammifères marins (gris), les tortues de mer (vert) et les oiseaux de mer (bleu) au niveau de la population, publiées entre 1969 et 2020 (diagrammes de dispersion), par classe d'âge (diagrammes circulaires) et par bassin océanique (cartes) (Senko <i>et al.</i> 2020). .....	70
Figure 16. Les voies d'ingestion du plastique et les impacts potentiels (Nelms <i>et al.</i> 2023). .....	72
Figure 17. Entrée des particules plastiques dans le corps humain par inhalation. Les particules de plastique en suspension dans l'air proviennent de textiles synthétiques et de l'air extérieur pollué (Yee <i>et al.</i> 2021). .....	80
Figure 18. Entrée des particules plastiques dans le corps humain par ingestion. Les nanoplastiques peuvent interagir avec les protéines, les lipides, les glucides, les acides nucléiques, les ions et l'eau dans le corps humain, entraînant la formation de particules nanoplastiques en couronne qui traversent l'épithélium intestinal (Yee <i>et al.</i> 2021). .....	80
Figure 19. Entrée des particules plastiques dans le corps humain par contact cutané. Bien que la membrane cutanée soit trop fine pour que ces particules de plastique la traversent, les nanoplastiques peuvent pénétrer directement ou indirectement à travers les plaies et les barrières cutanées affaiblies (Yee <i>et al.</i> 2021). .....	84
Figure 20. Revue de littérature de 13 études analysant la Plastisphère sur les débris plastiques marins en mettant l'accent sur les communautés fongiques (mise à jour de Wright <i>et al.</i> 2020). .....	102
Figure 21. Les facteurs d'impact sur le développement de la plastisphère aquatique. L'impact combiné a été classé en trois ensembles : propriétés du plastique, conditions du milieu aquatique et durée de colonisation. Les facteurs d'impact détaillés sont illustrés dans chaque catégorie (Yu <i>et al.</i> 2023)..	106
Figure 22. Estimation du taux de dégradation de surface spécifique pour divers plastiques, en $\mu\text{m an}^{-1}$ (Chamas <i>et al.</i> 2020). .....	120
Figure 23. Capacité de biodégradation des bioplastiques testés dans des environnements gérés et contrôlés, conformément aux normes internationales de biodégradation (Narancic <i>et al.</i> 2018)....	122
Figure 24. Le mécanisme de biodégradation des microplastiques (Zhai <i>et al.</i> 2023). .....	124
Figure 25. Arbre phylogénétique montrant tous les micro-organismes identifiés comme ayant des capacités potentielles de dégradation des plastiques.....	126
Figure 26. Abondance relative de tous les taxons qui dégradent les plastiques au niveau du domaine (A), du phylum (B) et de la classe (C) (Gambarini <i>et al.</i> 2021). .....	126
Figure 27. Schéma des types importants de plastiques rencontrés dans l'environnement marin. Les enzymes fongiques et les espèces fongiques potentiellement impliqués dans la dégradation des plastiques sont affichées.....	132



## Liste des tableaux

Tableau 1. Répartition de la production mondiale des principales matières plastiques par type selon (Plastics Europe 2022). Mt, millions de tonnes ; %, pourcentage de la production mondiale.....18

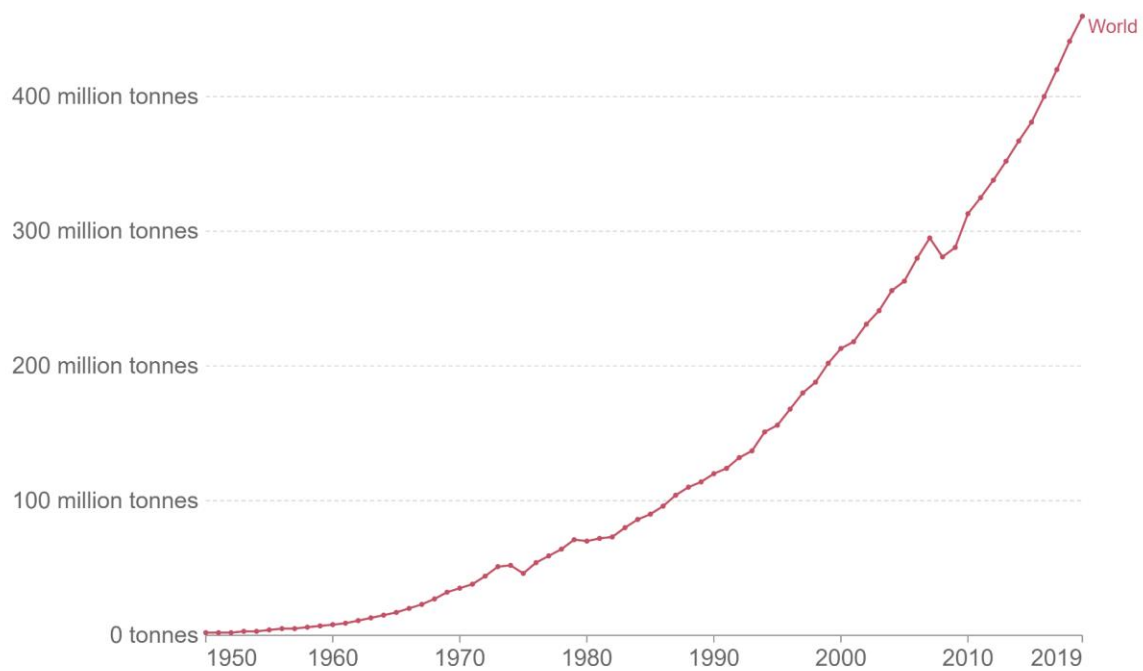
Tableau 2. Utilisation et propriétés physiques (point de fusion (°C), densité (g/cm<sup>3</sup>), cristallinité (%), résistance aux UV/oxydation, squelette) des plastiques les plus produits parmi les catégories des thermodurcissables, des thermoplastiques et des élastomères (Andrady 2017; Mohanan et al. 2020; Acarer 2023).....28

Tableau 3. Méthodes couramment employées pour évaluer les avantages et inconvénients de la dégradation du plastique (Zeghal et al. 2021).....142

## Global plastics production

Plastic production refers to the annual production of polymer resin and fibers.

Our World  
in Data



Source: Our World in Data based on Geyer et al. (2017) and the OECD Global Plastics Outlook  
OurWorldInData.org/plastic-pollution • CC BY

**Figure 1. Production mondiale de plastique par année depuis le début de la production commerciale de plastique en 1950 (Plastics Europe 2022)**

# I. Les plastiques : production et typologie

## A. Production mondiale

La bakélite, inventée en 1907 par Leo Baekeland, fut le premier plastique synthétique, c'est-à-dire un matériau polymère dérivé de produits chimiques issus de matières premières pétrochimiques, à être développé. Ce polymère novateur, thermodurcissable et amorphe, reconnu pour sa grande rigidité, a été à l'origine du terme "plastique", dérivé du mot grec *plastikos*, signifiant souple et facile à façonner (Fried 2014). Bien qu'au début du XXe siècle, la production de plastique fût relativement limitée, cette dernière connut une croissance exponentielle à la fin de la Seconde Guerre mondiale, atteignant une production de masse d'environ 5 millions de tonnes par an dans les années 1950.

L'approvisionnement en matières premières pétrochimiques (pétrole, charbon ou gaz naturel), fondamentales pour l'élaboration de polymères plastiques, s'effectuait de manière relativement économique et sans difficulté notable, ce qui a favorisé leur production par rapport à d'autres alternatives plus onéreuses comme le bois, le verre ou les métaux (Varghese *et al.* 2022). Les nombreuses propriétés des plastiques (légèreté, polyvalence, résistances chimique et physique, coût, durabilité, etc.) les ont rendus omniprésents dans notre quotidien. Dès lors, les plastiques se sont étendus à une multitude d'applications, des emballages alimentaires aux bouteilles, en passant par les sacs, les ustensiles, les jouets et les appareils électroniques. En 2021, 44% de la production de plastiques était consacrée au domaine de l'emballage, 18 % étaient destinés aux secteurs de la construction et du bâtiment, 8 % au domaine automobile, 7% au secteur électrique/électronique ainsi qu'à celui lié aux ménages/loisirs/sports, et 4% aux secteurs de l'agriculture, de l'élevage et du jardinage; les 12% restants étant liés à d'autres secteurs économiques (Smith & Vignieri 2021; Plastics Europe 2022).

Cette utilisation extensive a conduit à une dépendance vis-à-vis de différents types de plastiques, notamment à usage unique. L'évolution de la production mondiale de matières plastiques depuis leur introduction sur le marché, en 1950, démontre une tendance exponentielle (**Figure 1**). Une analyse succincte du jeu de données présent dans la base de

**Tableau 1. Répartition de la production mondiale des principales matières plastiques par type selon (Plastics Europe 2022). Mt, millions de tonnes ; %, pourcentage de la production mondiale.**

Plastic type	Abbreviation	Mt	%
Polyethylene	PE	105	26,9
High-density polyethylene	HD-PE	48	12,5
Linear low-density polyethylene and Low-density polyethylene	LLD-PE, LD-PE	56	14,4
Polypropylene	PP	75	19,3
Polyvinyl chloride	PVC	50	12,9
Polystyrene, Expanded-polystyrene	PS, PS-E	20	5,3
Polyurethane	PUR	21	5,5
Polyethylene terephthalate	PET	24	6,2



**Figure 2. Capacités de production mondiale de bioplastiques de la nouvelle économie (IfBB - Institute for bioplastics and biocomposites 2022).**

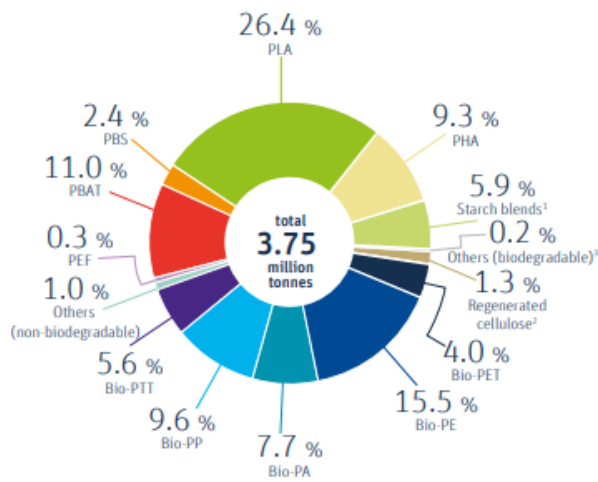
données « Global plastics production » (<https://ourworldindata.org/grapher/global-plastics-production>), permet de représenter une courbe de tendance. Si un modèle de type exponentiel permet de bien représenter l'évolution de la production mondiale de plastiques avec une équation de type  $y = 1E-56e^{0,074x}$  et un coefficient de détermination  $R^2$  de 0,9368, il est possible de remarquer qu'une représentation de type polynomiale de degré 2 d'équation  $y = 112477x^2 - 4E+08x + 4E+11$  et un coefficient de détermination  $R^2$  de 0,9961 permet de modéliser plus fidèlement les données. Cela est principalement dû à une déviation claire entre les données réelles et la modélisation exponentielle à partir des données de 2005, alors que la modélisation polynomiale de degré 2 suit quasi-parfaitement les données, de 1950 à 2019.

En 2021, malgré une sensibilisation accrue et des efforts de réduction, la production globale de matières plastiques persistait à augmenter pour atteindre 390,7 millions de tonnes (Plastics Europe 2022). Dans cette masse, 90,2 % de la production provenaient de ressources fossiles (**Tableau 2**). Les plastiques intégrant des cycles circulaires ont constitué environ 9,8 % de la production mondiale, soit 8,3 % provenant de plastiques recyclés post-consommation et 1,5 % issus de sources biosourcées (Plastics Europe 2022).

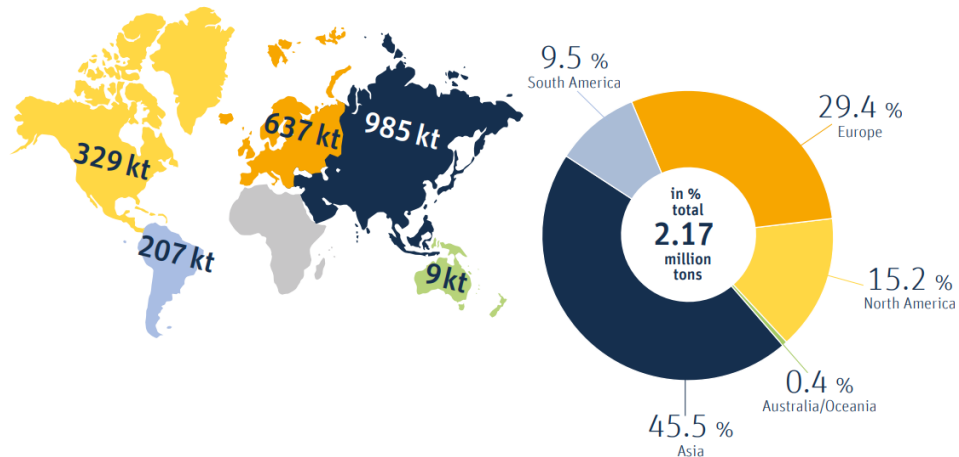
En 2022, les bioplastiques non-biodégradables constituaient 44,4% de la production totale des bioplastiques, tandis que les plastiques biodégradables représentaient 55,6%. La production de bioplastiques non biodégradables a été en constante augmentation depuis 2021 (**Figure 2**), et cette croissance devrait se poursuivre jusqu'en 2027, atteignant 1 629 tonnes (IfBB - Institute for bioplastics and biocomposites 2022). En parallèle, la production de plastiques biodégradables a atteint 1 204 tonnes en 2022 et devrait presque doubler d'ici 2027. En résumé, la production totale de bioplastiques, qu'ils soient biodégradables ou non, devrait quasiment doubler en 2027 pour atteindre 3 753 tonnes (IfBB - Institute for bioplastics and biocomposites 2022).

Ainsi, en raison du fort développement de polymères issus de ressources biosourcées tels que les PHA (polyhydroxyalcanoates), les PBAT (polybutylène adipate téréphtalate), les PLA (acide polylactique), les bio-PA (polyamides), ainsi que de la croissance régulière du bio-PE (polyéthylène) et du bio-PP (polypropylène), les modèles prévisionnels tendent vers des



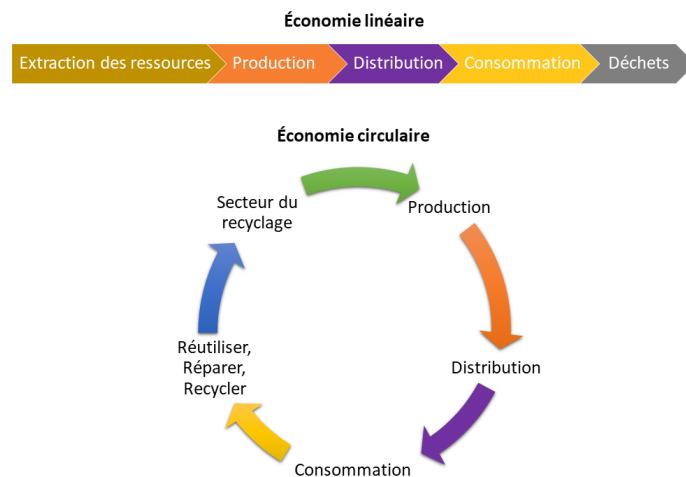


**Figure 3. Projection de la production mondiale de polymères biodégradables (PBAT, PBS, PLA, PHA, starch blends, regenerated cellulose, others biodegradable) vs. polymères biosourcés mais non biodégradables en 2027 (bio-PET, bio-PE, bio-PA, bio-PP, bio-PTT, PEF, other non-biodegradable) (European bioplastics 2022).**



**Figure 4. Capacités de production mondiale de bioplastiques de la nouvelle économie en 2022 (IfBB - Institute for bioplastics and biocomposites 2022).**

capacités de production en augmentation et à une diversification au cours des cinq prochaines années (**Figure 2, Figure 3**). En 2022, la production de bioplastiques était dominée par l'Asie, qui en produisait 45,5%, suivie de près par l'Europe avec 29,4%. Ensuite, étaient positionnées l'Amérique du Nord (15,2%) et l'Amérique du Sud (9,5%). Au total, 2,17 millions de tonnes de bioplastiques ont été produits dans le monde en 2022 (**Figure 4**).



**Figure 5. Économie linéaire vs. économie circulaire (Unterfrauner et al. 2017).**

### Focus sur la production européenne

A l'échelle européenne, suite à une diminution en 2020 provoquée par la pandémie de Covid-19, la production a repris sa croissance pour atteindre 57,2 millions de tonnes en 2021. Les plastiques recyclés issus de la consommation ainsi que les plastiques biosourcés représentaient respectivement 10,1 %, soit 5,8 Mt, (enregistrant une hausse d'environ 20 % par rapport à 2020) et 2,3 % de la production européenne de plastiques, soit 1,3 Mt, une tendance à la hausse depuis 2018 (Plastics Europe, 2022). En septembre 2021, de nombreuses nations et organisations ont instauré des interdictions concernant certains articles en plastique à usage unique, et des efforts pour nettoyer et prévenir la pollution plastique marine étaient en cours à l'échelle mondiale. La loi "anti-gaspillage pour une économie circulaire\*" (AGEC) (Figure 5), pour un objectif de développement durable et international, par le décret n° 2021-461 du 16 avril 2021, vient en soutien au changement de modèle de production et de consommation afin de limiter les déchets pour préserver les ressources naturelles. Cette loi se décline en cinq grands axes : i) sortir du plastique jetable, ii) mieux

informer les consommateurs, iii) lutter contre le gaspillage et pour le réemploi solidaire, iv) agir contre l'obsolescence programmée et v) mieux produire. Par exemple, la restauration rapide doit, depuis le 1er janvier 2023, utiliser de la vaisselle réutilisable pour les repas et les boissons servis sur place (gobelets, couvercles, assiettes, récipients ou encore couverts). Toutefois, la pandémie de COVID-19 a fortement dynamisé le secteur de la production de plastiques à usage unique, tels que les équipements de protection individuelle, notamment les masques chirurgicaux, destinés aux professionnels de la santé et aux citoyens pour contenir la propagation du virus (Shams *et al.* 2021), mais également les ustensiles à usage unique des ventes à emporter (Patrício Silva *et al.* 2021).

En 2021, malgré la persistance du défi posé par l'ampleur du problème, la demande européenne en matière plastique n'a pas faibli. Les emballages représentaient 44 % de cette demande en Europe, suivis par le secteur de la construction (18 %) et de l'automobile (8 %) (Plastics Europe, 2022). Cette demande européenne s'est accompagnée d'une forte consommation de plastiques conventionnels tels que le polypropylène (PP), le polyéthylène basse densité (PE-LD) et le polyéthylène haute densité (PE-HD).

L'augmentation de la consommation de plastiques a mis en lumière la problématique de la fin de vie des plastiques, plus précisément du traitement des déchets après utilisation, qui constitue un enjeu majeur de la recherche contemporaine en sciences environnementales. L'omniprésence des plastiques pose des défis d'envergure en raison de leur persistance dans l'environnement. Des études telles que celles menées par (Thompson *et al.* 2004) ont mis en évidence la fragmentation des plastiques (*cf. Partie I.B.3. Les microplastiques*) qui, entraîne des conséquences écologiques complexes, altérant de manière significative les écosystèmes marins et ayant des répercussions en cascade sur la biodiversité (Andrady 2017). La production mondiale de plastiques engendre donc d'importants impacts environnementaux, notamment la pollution de l'eau, l'épuisement des ressources, mais également le réchauffement climatique (Saleem *et al.* 2023).



## Les différentes classes de polymères

Si le plastique est couramment considéré comme un seul type de polluant, dans les faits les plastiques correspondent à un groupe de matériaux divers et hétérogènes. Ils sont produits synthétiquement à partir d'un squelette carbone-hydrogène, avec différents groupes fonctionnels. Les différentes caractéristiques (densité\*, masse moléculaire, forme, cristallinité\*...) ainsi conférées aux différents polymères plastiques peuvent influencer de manière significative leur devenir (en termes de distribution et d'abondance) et leurs effets écologiques. Par exemple, pour les plastiques rejoignant les zones maritimes, la position initiale du plastique dans la colonne d'eau est influencée par sa densité\*, qui affecte également sa flottabilité dans l'eau de mer (Shamskhany *et al.* 2021). De plus, la dégradation oxydative et la fragmentation du plastique pendant son altération sont principalement déterminées par son degré de cristallinité\*. Ainsi, lorsque le degré de cristallinité\* d'un polymère est important, davantage de quantités d'eau et d'oxygène seront nécessaires à sa dégradation (Dimassi *et al.* 2022). Le degré de cristallinité\* d'un polymère est donc inversement proportionnel à sa biodégradabilité.

### 1. Les plastiques conventionnels

D'après Bourguignon (2017), les matières plastiques peuvent être classées en différents types qui sont généralement regroupés en trois grandes catégories en fonction de leurs caractéristiques physiques : les thermodurcissables (plastiques durs qui ne peuvent pas être refondus et remodelés), les thermoplastiques (qui peuvent être refondus dans un liquide et remodelés ou recyclés à plusieurs reprises) et les élastomères (plastiques élastiques souples). Les plastiques conventionnels sont produits à partir de sources non renouvelables telles que le gaz naturel, le charbon ou le pétrole. Le pétrole brut est séparé en composants, appelés fractions ; chaque fraction représentant un mélange de chaînes d'hydrocarbures (Williams & Rangel-Buitrago 2022). Une de ces fractions, appelée « naphtha », est utilisée comme matière première pour la production de plastiques. Après un processus de craquage, le naphtha est fragmenté en monomères qui, par la suite, sont liés pour former des polymères (Shaw & Sahní 2014). Les plastiques industriels peuvent contenir divers additifs, tels que des plastifiants (10–70% en poids), des retardateurs de flamme (3–25% en poids), des antioxydants (0.05–3% en poids), des stabilisateurs UV (0.05–3% en poids), des stabilisateurs thermiques (0.05–3% en



poids), des agents de glissement (0.1–3% en poids), des lubrifiants (0.1–3% en poids), des agents antistatiques (0.1–1% en poids), des agents de durcissement (0.1–2% en poids), des agents d'expansion (0.5–20.5% en poids), des biocides (0.001–1 wt%), des colorants (0.25–5 wt%), des pigments (0.001–10% en poids), des charges (0–50% en poids), et des renforts (15–30% en poids) (Chea *et al.* 2023). Ces additifs influent sur le coût de production et représentent une masse d'environ 27 millions de tonnes par an. Cette pratique d'ajout d'additifs entraîne une importante pollution lors de la production, principalement sous forme de rejets toxiques dans l'air, dans l'eau et dans le sol (Chea *et al.* 2023). Par exemple, une bouteille en PET émet plus de 100 fois plus de composés toxiques dans l'air et l'eau par comparaison à la fabrication d'une bouteille en verre de taille similaire (Williams & Rangel-Buitrago 2022).

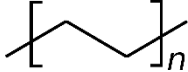
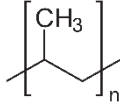
Les plastiques les plus produits sont le PE, PP, PVC, PS et le PET, présentés dans le **tableau 2**. Les polymères constitués principalement de liaisons covalentes simples C-C, difficiles à rompre, montrent une résistance à l'hydrolyse et à la biodégradation, mais sont sensibles à l'oxydation thermique. En revanche, les polymères contenant des hétéroatomes peuvent être sujets à la photo-oxydation, à l'hydrolyse et à la dégradation biologique (Ali *et al.* 2021b).

La flottabilité d'un matériau plastique spécifique dans la colonne d'eau et son potentiel d'interaction avec divers organismes sont déterminés en grande partie par sa densité\*. Il a été montré que seulement 1 % des déchets plastiques estimés flottent réellement à la surface de l'océan (Van Sebille *et al.* 2015).

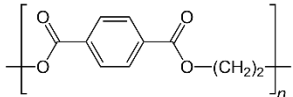
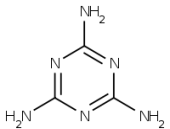
Lorsqu'il est vierge, un polymère avec une densité\* supérieure à 1,02-1,03 g/cm<sup>3</sup> (e.g. PVC) transitionnera de la surface vers les couches inférieures de la colonne d'eau. La fragmentation d'un polymère ne modifie pas sa flottabilité, car elle n'altère pas sa densité\*. En raison de leur résistance à la fragmentation, le HD-PE (polyéthylène haute densité), le LD-PE (polyéthylène basse densité), le PUR (polyuréthane) et le PP (polypropylène) conservent leur intégrité alors que le PVC (polychlorure de vinyle), le PS (polystyrène) et le PET (polyéthylène téréphthalate) se fragmentent plus rapidement en particules de plus petite taille (mésoplastiques), puis en microplastiques. Cependant, au-delà de la densité\*, la flottabilité des polymères en mer est influencée par d'autres facteurs.

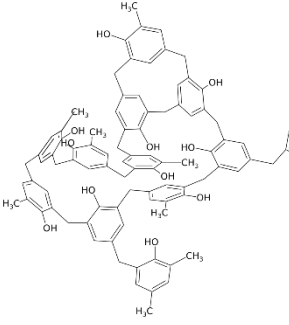
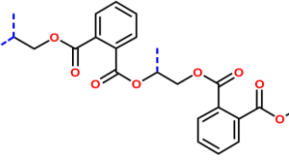
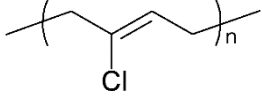
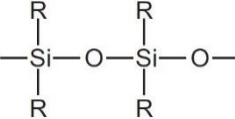


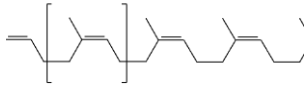
**Tableau 2. Utilisation et propriétés physiques (point de fusion (°C), densité (g/cm<sup>3</sup>), cristallinité (%), résistance aux UV/oxydation, squelette) des plastiques les plus produits parmi les catégories des thermodurcissables, des thermoplastiques et des élastomères (Andrady 2017; Mohanan et al. 2020; Acarer 2023)**

	Polymère	Abréviation	Utilisation	Point de fusion (°C)	Densité (g/cm <sup>3</sup> ) (NB: eau de mer = 1.025)	Cristallinité (%)	Résistance aux UV/oxydation	Squelette
Thermoplastiques	Polyéthylène	PE (LPDE, HEPE)	Utilisé dans de nombreuses applications, telles que les sacs en plastique, les bouteilles, les emballages alimentaires, les tuyaux, les films agricoles.	105-130	0,88-0,97	80-90	Faible	Squelette carbone-carbone 
	Polypropylène	PP	Utilisé dans une variété de produits, notamment les emballages	165	0,83-0,95	30-50	Faible	Squelette carbone-carbone 

			alimentaires, les récipients, les bouchons de bouteilles, les fibres textiles, les pièces d'automobile.					
	Polychlorure de vinyle	PVC	Utilisé dans la fabrication de tuyaux, de fenêtres, de revêtements de sol, de films plastiques, d'emballages, etc..	115-245	1,16-1,58			<p>Squelette carbone-carbone</p> $\left[ \begin{array}{cc} \text{H} & \text{Cl} \\   &   \\ -\text{C} & -\text{C}- \\   &   \\ \text{H} & \text{H} \end{array} \right]_n$
	Polystyrène	PS	Utilisé dans la fabrication de gobelets jetables, d'emballages	240	0.96-1.10	0	Modéré	<p>Squelette carbone-carbone</p> $\left[ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5 \\   \\ -\text{C} \\   \\ \text{H} \end{array} \text{---} \begin{array}{c} \text{H} \\   \\ -\text{C}- \\   \\ \text{H} \end{array} \right]_n$

			alimentaires , de matériaux d'isolation, de jouets, etc.					
	Polyéthylène téréphtalate	PET	Utilisé pour fabriquer des bouteilles en plastique pour les boissons, les produits de soins personnels et les contenants alimentaires .	280	0,96-1.45	10-30	Élevé	Polymères hétéroatomiques  
Thermodurcissables	Aminoplastes	MF et UF	Vaisselle en plastique, revêtement de plancher, panneau décoratif	350				Structure moléculaire de la mélamine  

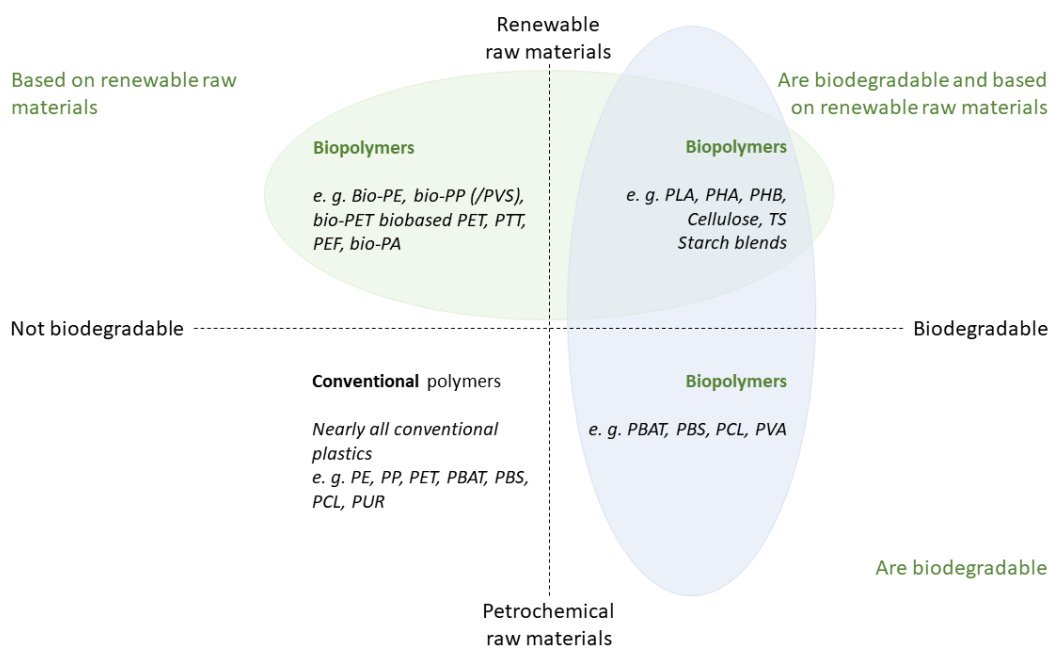
	Phénoplastes	PF	Boîtier d'objets divers, poignée de casserole, isolant en électricité et en aéronautique	41				
	Polyesters réticulés	UP	Coque de bateau, canne à pêche, piscine hors-terre					
Elastomère	Polychloroprène (Néoprène)	CR	Adhésif, combinaison de plongée, vêtement en néoprène	130	-1,50	1,35		
	Élastomère de silicone	-	Isolant thermique et électrique utilisé en construction	300	1,23			

	Caoutchouc butadiène- styrène	-	Caoutchouc synthétique , pneu, élastique	180- 200	1,4-1,6			
--	-------------------------------------	---	---	-------------	---------	--	--	---

Le “biofouling\*”, c'est-à-dire l'encrassement biologique, impliquant la colonisation une fois en mer du polymère par des organismes (macro- et micro-organismes), influence également la flottabilité et la capacité d'un matériau léger à rester à la surface. L'adhésion d'organismes accroît le poids du plastique, réduisant ainsi sa flottabilité y compris de plastiques légers, tels que le polyéthylène, qui peuvent couler après avoir été colonisés. Ces agrégats biotiques jouent donc un rôle majeur dans le déplacement vertical des microplastiques, les transportant de la surface de l'eau vers les sédiments (Lagarde *et al.* 2016), dans lesquels l'abondance moyenne de microplastiques est la plus élevée (Ma *et al.* 2023). D'autre part, l'ingestion par des organismes ou l'agrégation avec de la matière organique peut altérer la densité\* des polymères. Dans des environnements similaires, la composition du biofilm peut dépendre de la forme du microplastique (Kaiser *et al.* 2017). Le transport des plastiques en milieu marin est donc un phénomène complexe, lié à la fois aux propriétés intrinsèques des plastiques, notamment la densité\*, mais également à l'encrassement de ces matrices, altérant de fait leurs propriétés physiques.

## 2. Les bioplastiques

Les bioplastiques présentent des caractéristiques équivalentes aux plastiques conventionnels en termes de propriétés physiques et semblent prometteurs pour répondre à de nombreuses préoccupations environnementales. Cependant, ces plastiques ne sont pas tous synonymes de biodégradabilité. Les plastiques biosourcés sont fabriqués à partir d'un polymère non pétrolier, entièrement ou partiellement dérivé de la biomasse, tel qu'un déchet organique ou une source biologique renouvelable (e.g. cellulose, amidon, lignine) (Ali *et al.* 2023). Ils sont considérés comme ayant un avantage environnemental important (étant biosourcés) mais ne sont pas tous biodégradables. Certains plastiques biosourcés sont capables de se dégrader naturellement dans l'environnement, tandis que certains d'entre eux nécessitent des conditions particulières (compostage).



**Figure 6. Catégories de plastiques en fonction de leurs matière première et biodégradabilité (adaptée et mise à jour selon (Di Bartolo et al. 2021)).**

Les plastiques biodégradables, quant à eux, peuvent être d'origine biologique ou à base de pétrole, et métabolisés par voie microbienne en dioxyde de carbone, eau et en biomasse, si les conditions biotiques et abiotiques (humidité, oxygène et nombre de micro-organismes) sont appropriées. Ces conditions peuvent être rencontrées dans les décharges naturelles ou le fumier, et permettent une dégradation de ces plastiques sur des temps courts (20 à 45 jours) par rapport aux plastiques conventionnels pour lesquels la durée de vie estimée est d'environ cent à mille ans (Moshood *et al.* 2022). La propriété de biodégradation ne dépend donc pas des matières premières d'un matériau mais est plutôt liée à sa structure chimique. De ce fait, à l'échelle internationale, les bioplastiques sont divisés en trois catégories (**Figure 6**) :

- **Matériaux biosourcés et biodégradables.** Les PHA (polyhydroxyalcanoates), le PLA (acide polylactique), le bio-PBS (polybutylène succinate) et les polymères à base de chitosane, d'amidon, de lignine et de cellulose sont des bioplastiques à la fois d'origine biologique et biodégradables (Madhavan Nampoothiri *et al.* 2010).
- **Matériaux biosourcés (ou partiellement biosourcés) et non biodégradables.** Par exemple, le polyéthylène biosourcé (bio-PE), le polypropylène biosourcé (bio-PP), les polyamides biosourcés (bio-PA) et le polyéthylène téréphtalate biosourcé (bio-PET), ayant la même structure que leur équivalent conventionnel (Siracusa & Blanco 2020).
- **Matériaux non-biosourcés et biodégradables.** Polymères fabriqués à partir de combustibles fossiles mais rendus biodégradables, comme le PBS, l'alcool polyvinylique (PVA) et le PBAT (Ferreira *et al.* 2019).

Les bioplastiques peuvent être dérivés de matériaux biologiques mais sont chimiquement identiques aux plastiques dérivés du pétrole, la seule différence étant la source dont ils sont dérivés. L'avantage environnemental de ce type de matériau est que, du fait qu'il provient majoritairement d'une matrice végétale, une certaine quantité de dioxyde de carbone est capturée lors du processus. De plus, la production de bioplastiques a un impact environnemental plus faible que celui des plastiques à base de pétrole en termes d'émissions de gaz à effet de serre (GES) (Rajvanshi *et al.* 2023). Le PLA a généralement les émissions les plus faibles par rapport aux polymères fossiles à émissions élevées, tels que le PS. Le bioéthylène, lui, est susceptible d'entraîner une réduction plus importante des émissions pour les polymères à forte teneur en éthylène, comme le PE. En revanche, il est peu probable que





le PHB ait des émissions inférieures à celles des polymères fossiles comme le PE une fois les émissions en fin de vie incluses ainsi que l'utilisation de bioéthylène (Posen *et al.* 2016). On considère en général, qu'une substitution complète du plastique à base de ressources fossiles par des bioplastiques réduirait les émissions de GES de 369 Mt (-1 %), augmenterait la disponibilité des terres utilisables de 65 Mha (+1,2 %) et créerait 18 millions d'emplois (+0,6 %) (Jin *et al.* 2023).

Outre les matrices végétales, les micro-organismes peuvent également être utilisés pour la production de plastiques biosourcés. Les bactéries, par exemple, dans des conditions de stress par excès de carbone (C) et de limitations de nutriments inorganiques, tels que l'oxygène, l'azote ou les phosphates, détournent leur métabolisme vers le stockage de carbone comme réservoir d'énergie et synthétisent des PHA (Kumar *et al.* 2018; Ray & Kalia 2017). La production de PHA et sa composition varient selon les nutriments et les souches microbiennes considérées (Ray & Kalia 2017). Les propriétés physiques du PHA dépendent donc principalement de la composition en monomères du polymère, de l'organisme producteur, des conditions de croissance et des techniques d'extraction du polymère. Plusieurs isolats microbiens appartenant aux genres *Haloferax* (archée), *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* (bactéries), *Aureobasidium* et *Penicillium* (micromycètes), font partie des micro-organismes producteurs de PHA/PHB les plus connues (Konwar 2023; Pawar *et al.* 2023). Cependant, les plastiques biodégradables et/ou biosourcés ont des coûts de production plus élevés que les plastiques d'origine fossile. Par exemple, le coût de production du PHA ou du PHB (3-8\$ par kg) est quatre à neuf fois supérieur au prix de celui du polyéthylène (1,4-1,6 \$ par kg) (Amadu *et al.* 2021; Rosenboom *et al.* 2022). Il est donc nécessaire de rechercher à terme des alternatives de matières premières intéressantes et rentables pour la production de PHA/PHB. Différents types de déchets agissent comme d'excellents substrats pour la synthèse de PHA, comme ceux à base de lignine (Kumar *et al.* 2017, 2018), les boues d'épuration (Kumar *et al.* 2018), les eaux usées (De Grazia *et al.* 2017), le glycérol (Morya *et al.* 2018) et le dioxyde de carbone (Kumar *et al.* 2016). Les boues de traitement des eaux usées peuvent être considérées comme une des matières premières d'intérêt car elles contiennent des consortia de divers micro-organismes (Rajvanshi *et al.* 2023; Varghese *et al.* 2022). La production de PHB par des cyanobactéries ou des microalgues photoautotrophes est



également une alternative réalisable pour une production à faible coût en raison de la matière première peu coûteuse (Amadu *et al.* 2021).

Le PLA est actuellement le polymère le plus prometteur et est considéré comme un matériau écologique « vert » par excellence. Il est synthétisé par polymérisation d'acide lactique (Rosenboom *et al.* 2022), compostable industriellement. Le maïs est la meilleure source d'acide lactique de haute pureté. Ainsi, les matrices végétales, utilisées comme matières premières, peuvent réduire les coûts de fabrication. Cependant, même si ce plastique est qualifié de « biodégradable », il maintient sa résistance à la dégradation en conditions marines pendant au moins une année (Royer *et al.* 2023). Il est donc essentiel de souligner que la compostabilité de ce matériau ne garantit pas sa dégradation dans l'environnement et qu'une gestion adéquate est cruciale pour l'élimination de ce type de plastiques compostables.

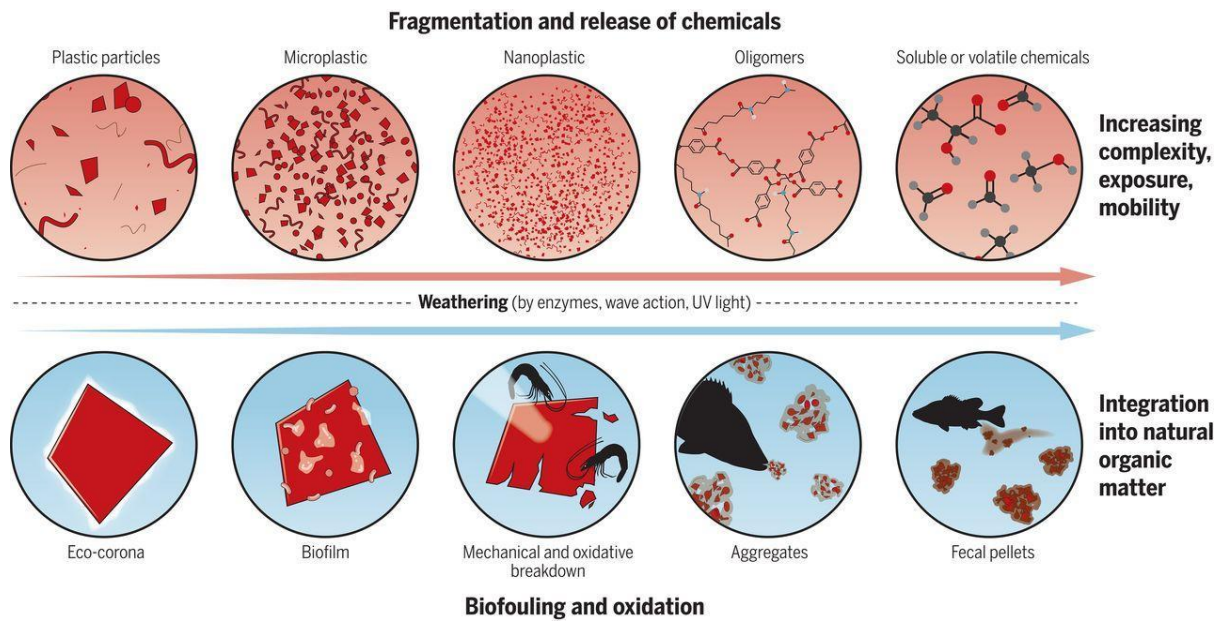
La production de bioplastiques n'est pas seulement limitée aux micro-organismes affiliés aux bactéries, archées et champignons, les micro-algues eucaryotes et macro-algues peuvent également être utilisées pour la production de bioplastiques (Zaher & Ibrahim 2023). L'amidon, le PHA, la cellulose, le PLA, le bio-PVC, le bio-PE et certains polymères à base de protéines seraient actuellement dérivés de biomasse algale (Karan *et al.* 2019). La production de bioplastique algal présente certains avantages tels que la réduction de l'effet de serre en absorbant le dioxyde de carbone lors du processus photosynthétique, et le potentiel de production à haut rendement en fermenteur. De plus, l'utilisation d'algues pour la production de bioplastiques n'impacte pas la sécurité alimentaire mondiale, contrairement à d'autres bioplastiques nécessitant l'utilisation de ressources végétales vivrières.

Cependant, il convient de souligner que les déchets bioplastiques, qu'ils soient biodégradables en milieu naturel ou non, dans un contexte industriel ou non, engendrent des problèmes de pollution similaires à ceux causés par les plastiques dérivés du pétrole. Ils ne peuvent pas être simplement jetés n'importe où, car ils ne se décomposent pas intégralement et dans des temps courts en milieu naturel (*cf. Partie III.B. Dégradation abiotique*). Par exemple, les plastiques de type PLA, biosourcés et biodégradables, peuvent générer davantage de microplastiques lors de leur dégradation que le polystyrène (Lambert & Wagner

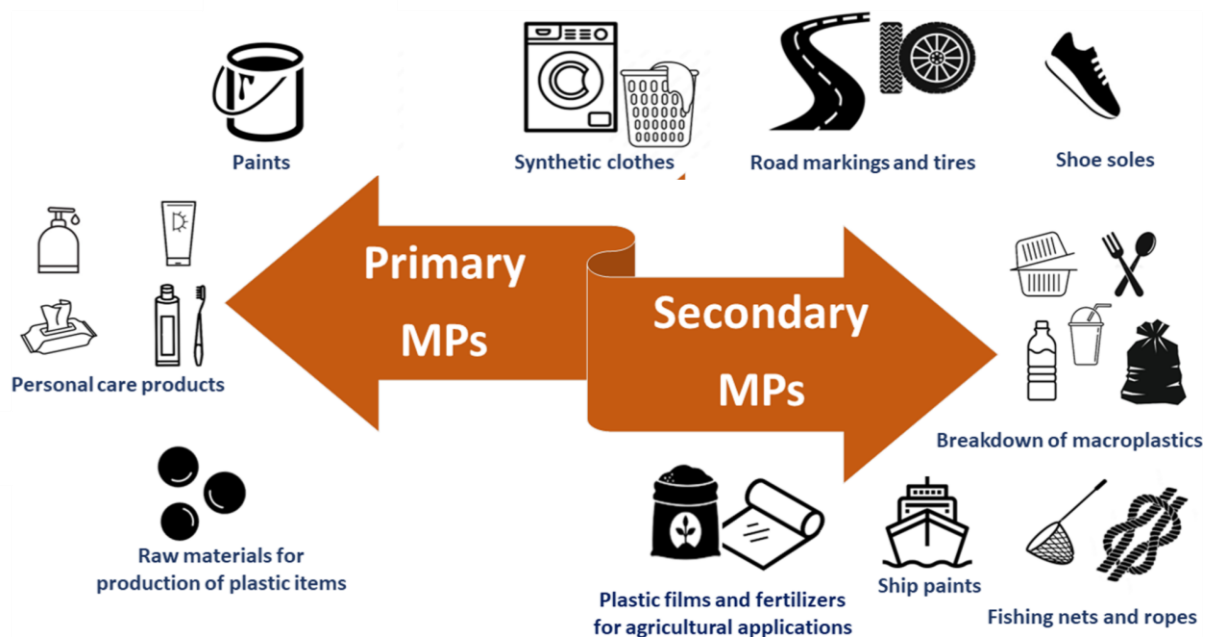


2016). Aussi, une quantité supérieure significative de microplastiques est générée à partir de poly(adipate-co-téréphtalate de butylène), un type de bioplastique biodégradable, comparativement au polyéthylène à basse densité, que ce soit en milieu d'eau douce ou d'eau de mer (Qin *et al.* 2022). Il est donc important de noter que la plupart des déchets bioplastiques biodégradables nécessitent un traitement dans des conditions contrôlées. Le plus souvent, pour qu'ils puissent être de nouveau utilisés, un traitement spécifique dans des installations de compostage industriel est nécessaire. Par exemple, le PLA peut prendre jusqu'à 80 ans pour se décomposer en plein air, mais lorsqu'il est soumis à un processus de compostage industriel, cela peut être réduit à quelques jours ou mois, selon les conditions et ne laisse aucun résidu toxique (Pascoe Ortiz 2023). Également, certains bioplastiques présentent d'autres inconvénients. Certaines des matières premières qu'ils utilisent sont souvent aussi utilisées pour l'alimentation humaine ou animale. De fait, une forme de concurrence peut s'opérer entre sécurité alimentaire et production de bioplastiques (Pascoe Ortiz 2023). De plus, les bioplastiques peuvent également agir comme vecteurs de micro-organismes et de polluants chimiques. A titre d'exemple, certaines recherches ont révélé que les microplastiques biodégradables présentent une plus grande capacité d'adsorption d'antibiotiques que les plastiques conventionnels (Fan *et al.* 2021; Kong *et al.* 2021; Qin *et al.* 2022), ce qui pourrait accroître la menace pour les organismes aquatiques en tant que vecteurs de transport. Des additifs sont également ajoutés aux polymères biosourcés, ce qui renforce l'idée de leur non-innocuité.

La production mondiale de bioplastiques affiche une croissance continue au cours des dernières années mais représente encore une très petite part du marché global des plastiques. Si une augmentation de la synthèse microbienne de polymères biosourcés tels que le PHA, le PHB ou encore le PLA en utilisant des matières premières renouvelables et des déchets industriels comme substrats (Varghese *et al.* 2022) est envisageable, la production à grande échelle de ces matériaux reste à ce jour très en retrait par rapport à celles des plastiques conventionnels, et ces matériaux ne restent pas exempts de conséquences d'un point de vue écotoxicologique.



**Figure 7. Processus d'altération de particules plastiques. L'altération se déroule selon deux voies co-occurentes et synergiques : la fragmentation et la libération de substances chimiques, d'une part, et l'encrassement biologique et l'oxydation, d'autre part (MacLeod et al. 2021).**



**Figure 8. Sources des microplastiques primaires et secondaires (adaptée de Acarer 2023).**

### 3. Les microplastiques

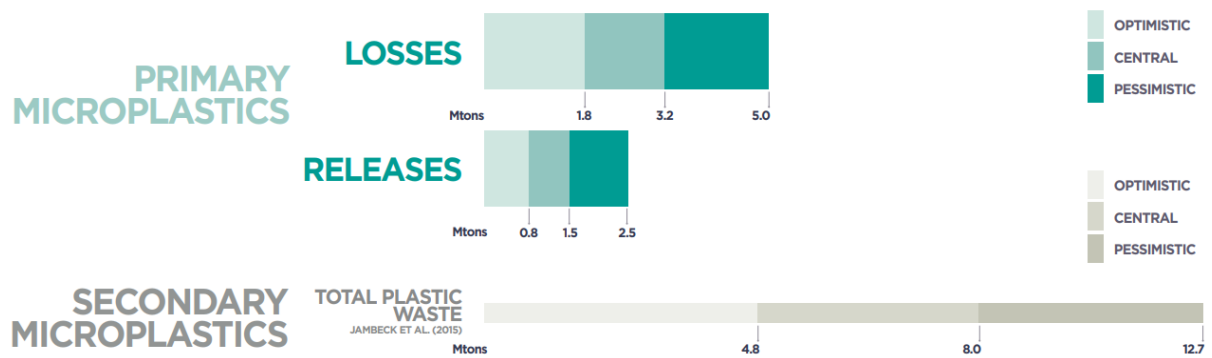
Les plastiques de grande taille, appelés macroplastiques (mesurant de 250 à 1000 mm), subissent des processus de fragmentation et évoluent en particules de mésoplastiques (de 5 à 250 mm), puis en microplastiques, et en-deçà de 1 µm, ils sont catégorisés en tant que nanoplastiques (**Figure 7**). Les microplastiques, classifiés comme primaires ou secondaires (**Figure 8**), sont des particules plastiques de dimensions inférieures à 5 mm (Arthur *et al.* 2009). Divers processus contribuent à la dégradation des plastiques, soit par dégradation abiotique (photodégradation et thermo-oxydation), soit par dégradation biotique (action des microorganismes) ou soit de façon synergique.

#### a) Microplastiques primaires\*

Les sources de microplastiques primaires\* englobent les plastiques produits directement à l'échelle idoine, tels que les granulés de plastique ou les microplastiques présents dans les nettoyants exfoliants ou les cosmétiques (Auta *et al.* 2017). Ces derniers, récemment examinés, peuvent renfermer jusqu'à 50 391 microbilles par gramme, et à chaque utilisation peuvent relarguer 229 000 microbilles dans les eaux usées domestiques (Guerranti *et al.* 2019). Les microplastiques provenant de produits cosmétiques sont à plus de 90 % du PE, du PP, du PET, du PMMA et du nylon (Dąbrowska *et al.* 2022). Depuis 2020, les microplastiques sont totalement interdits pour une utilisation en tant qu'agents exfoliants dans les cosmétiques (Loi pour la reconquête de la biodiversité, de la nature et des paysages du 20 Juillet 2016).

Les microplastiques primaires\* prédominent dans les échantillons environnementaux provenant de l'eau, du sol et de l'air. L'estimation des rejets mondiaux annuels de microplastiques primaires\* dans les océans atteint environ 1,5 million de tonnes (Boucher & Friot 2017), avec des estimations variant entre 0,8 et 2,5 millions de tonnes par an (**Figure 9**). Cette quantité correspond approximativement à un sac en plastique conventionnel vide jeté dans l'océan par personne chaque semaine à l'échelle mondiale (Boucher & Friot 2017). Par ailleurs, selon les estimations d'Eriksen *et al.* (2014) et de Van Sebille *et al.* (2015), entre 93 et 268 ktonnes de ces microplastiques flottent actuellement à la surface des océans.





**Figure 9. Rejets mondiaux de microplastiques dans les océans du monde : sources primaires et secondaires (en millions de tonnes). Les scénarios de rejets estimés dans les océans sont compris entre optimiste et pessimiste (Boucher & Friot 2017).**

## b) Microplastiques secondaires

Les microplastiques secondaires\* résultent de la fragmentation physique et/ou biologique de particules plus volumineuses (macro et mésoplastiques), comme par exemple l'abrasion mécanique et l'oxydation photochimique (*cf. Partie III.B. Dégradation abiotique*) ou la production d'exo-enzymes par des micro-organismes (*cf. Partie III.C. Biodégradation*). La mise en suspension des microplastiques sur les routes pourrait contribuer à hauteur de 84 % à la présence de plastiques dans l'air (Brahney *et al.* 2021). Une autre étude a réalisé des échantillonnages de rejets des machines à laver domestiques, révélant qu'un seul lavage de vêtement peut libérer plus de 1900 fibres et constituait donc l'une des sources majeures de fibres microplastiques dans l'environnement marin (Browne *et al.* 2011). De plus, l'usure des vêtements peut entraîner la libération de fibres microplastiques directement dans l'atmosphère (De Falco *et al.* 2020). Dans les régions d'Asie, d'Afrique et du Moyen-Orient, les textiles synthétiques représentent la principale source de microplastiques dans l'environnement (Boucher & Friot 2017), en grande partie à cause de l'absence de raccordement à des systèmes de traitement des eaux usées pour une importante fraction de la population. Les microplastiques issus de textiles synthétiques se dispersent soit par écoulement, soit par dispersion par le vent. En revanche, en Amérique, en Europe et en Asie centrale, ce sont principalement les pneus qui prédominent en tant que source de microplastiques (Boucher & Friot 2017).

Les microplastiques secondaires\* semblent donc plus abondants dans les océans que les microplastiques primaires\* (**Figure 9**). En plus de se retrouver dans tous les compartiments des écosystèmes aquatiques (colonne d'eau, sédiments, subsurface), les microplastiques sont également plus facilement ingérés par les organismes vivants, et agissent comme des vecteurs de polluants (intrinsèques et extrinsèques) impactant l'ensemble de la chaîne trophique.



## II. Pollution plastique et ses impacts

### A. Cycle de vie des plastiques

Une fois utilisés, les polymères plastiques entrent dans une phase cruciale de leur cycle de vie, à savoir la gestion et l'élimination des déchets plastiques. Mais la fin de vie d'utilisation n'équivaut pas à la fin de l'impact des déchets plastiques (Wojnowska-Baryła *et al.* 2022).

Diverses méthodes, telles que la mise en décharge, l'incinération et le recyclage, ont été développées pour faire face à ce défi. En ce qui concerne la gestion des déchets plastiques, une analyse sur la période allant de 1950 à 2015 révèle qu'environ 6,3 milliards de tonnes métriques de la production mondiale de plastique ont été converties en déchets. Sur cette masse de déchets, seulement 9% ont connu des processus de recyclage dont 10% ont été recyclés plus d'une fois, 12 % ont été incinérés et 79 % ont fini dans des décharges ou ont été déversées dans l'environnement (Geyer *et al.* 2017). L'incinération peut entraîner la libération de gaz nocifs tels que les furanes et les dioxines, exacerbant potentiellement les émissions de gaz à effet de serre (GES) dans l'atmosphère, ce qui contribue au dérèglement climatique (Batterman & World Health Organization. *Water* 2004), et d'autres substances telles que les matières solides, par exemple les cendres qui augmentent les niveaux en métaux lourds, les substances inorganiques, les sels et composés organiques dans l'environnement (Ali *et al.* 2021a). Par ailleurs, l'émergence de polymères plastiques biodégradables en tant qu'alternatives (*cf. Partie I.B.3. Les bioplastiques*) et les approches biotechnologiques, comme le traitement microbien ou enzymatique des déchets plastiques (*cf. Partie III.C. Biodégradation*), offrent de nouvelles solutions potentielles à cette problématique. Au cours des deux dernières décennies, la quantité de déchets mise en décharge chaque année a diminué en Europe et au Royaume-Uni. (Canopoli *et al.* 2018). Les pays de l'Union Européenne, qui imposent des restrictions ou des interdictions de mise en décharge, ont des pourcentages de recyclage et de valorisation des déchets plus élevés.

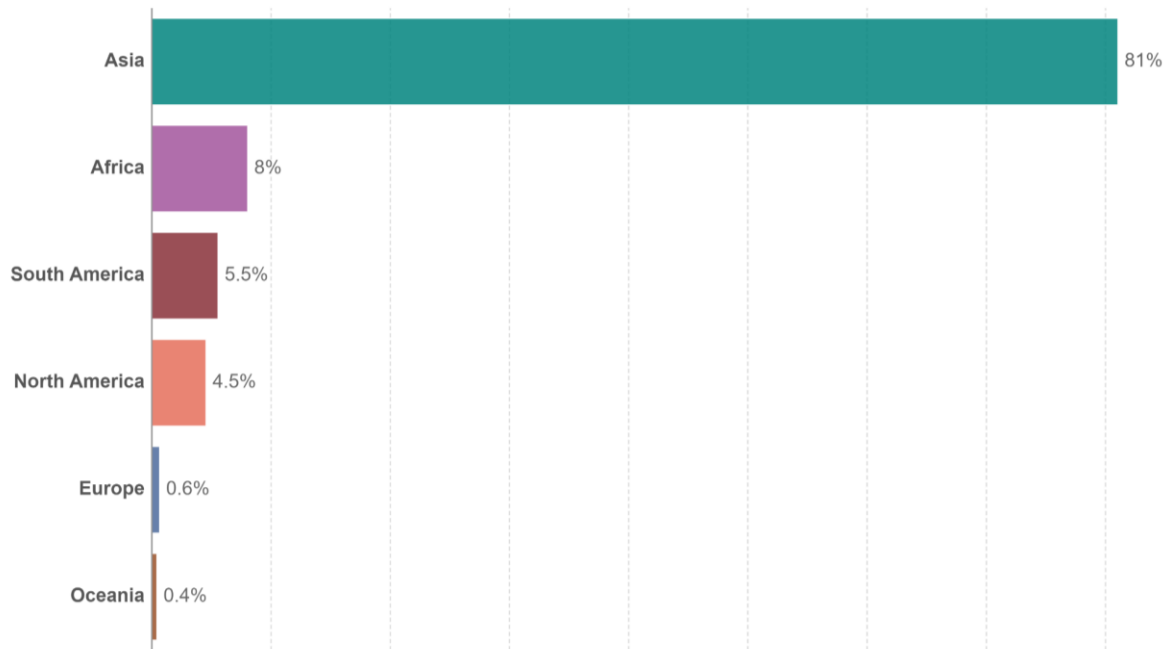


La collecte des déchets plastiques post-consommation représentait plus de 32 % dans plusieurs pays de l'UE. Le taux de recyclage le plus élevé a été constaté en Norvège, soit 45 %, contre environ 9 % aux États-Unis. Cependant, le plastique est limité à un certain nombre de cycles de recyclage avant que sa qualité ne se dégrade au point de devenir inutilisable; sachant que tous les types de plastique ne sont pas recyclables (Garcia & Robertson 2017). De plus, le tri initial des plastiques en vue du recyclage s'avère à la fois onéreux et chronophage, tandis que le recyclage lui-même exige d'importantes quantités d'énergie et engendre fréquemment des polymères de mauvaise qualité.

Les décharges diffèrent en fonction des régions géographiques. Alors que les pays développés disposent souvent de décharges recouvertes d'une épaisse couche de protection qui empêche les fuites dans l'environnement, les pays moins développés disposent souvent de décharges à ciel ouvert dans lesquelles le plastique peut facilement s'exfiltrer dans l'environnement entraînant des dommages environnementaux. La microbiologie et la géochimie des décharges évoluent dans le temps et en lien avec les conditions environnementales. De plus, la décomposition des déchets plastiques dans les décharges libère différents GES, tels que la production de CO<sub>2</sub> et de CH<sub>4</sub> lors de la décomposition des déchets plastiques dans les décharges, ce qui peut entraîner plusieurs problèmes, tels que le dérèglement climatique et les pluies acides (Al-Shihabi *et al.* 2023) ainsi qu'une source supplémentaire de microplastiques (Bharath K *et al.* 2021). Les différents composés toxiques utilisés dans la fabrication des plastiques (e.g. additifs) peuvent engendrer des perturbations significatives dans la composition microbienne du sol (Chae & An 2018; de Souza Machado *et al.* 2018), qui peuvent être transmises au milieu aquatique, engendrant *in fine* des impacts environnementaux globaux. Parmi les méthodes de traitement des déchets, l'incinération et la mise en décharge sont les plus préjudiciables à l'environnement, engendrant une forte pollution.

## B. Pollution océanique

Les plastiques se caractérisent par leur résistance à la dégradation, conférant ainsi à ces matériaux, qui échappent aux systèmes de collecte et de valorisation, une persistance



Data source: Meijer et al. (2021)

[OurWorldInData.org/plastic-pollution](https://OurWorldInData.org/plastic-pollution) | CC BY

**Figure 10. Part des déchets plastiques mondiaux rejetés dans l'océan en 2019 (Meijer et al. 2021).**

marquée dans une diversité d'habitats, qu'ils soient terrestres, aquatiques ou atmosphériques. Cette caractéristique leur permet de demeurer présents dans les milieux naturels et de s'accumuler sur des échelles temporelles s'étalant sur plusieurs décennies, voire des siècles. Une étude récente a estimé qu'entre 8 et 12 millions de tonnes métriques de déchets plastiques étaient déversées dans les océans chaque année (Jambeck *et al.* 2015). Alors qu'en 2014, les chercheurs estimaient à 5,25 billions le nombre de fragments microplastiques, l'équivalent de 270 000 tonnes métriques, présents dans les océans du globe (Eriksen *et al.* 2014), en 2021, une étude récente a réévalué leur quantité dans les océans à 24 400 milliards de fragments, représentant un poids estimé entre 82 000 et 578 000 tonnes (Isobe *et al.* 2021).

Le plastique peut engendrer une toxicité considérable pour la faune. Aucun des plastiques majoritairement produits et de fait couramment utilisés n'est biodégradable, exigeant des siècles pour leur décomposition complète. La pollution microplastique des écosystèmes marins suscite dès lors une inquiétude croissante. Le constat actuel repose donc sur un triptyque néfaste, à savoir une production croissante de plastiques, une résilience intrinsèque de ces matériaux et une gestion non optimale de leur fin de vie d'utilisation, amenant à une dispersion des déchets plastiques très conséquente dans la nature, tant en nombre qu'en masse. De plus, la pandémie de COVID-19 a entraîné l'utilisation accrue de plastiques à usage unique, tels que les PP, PVC et PS, qui sont rarement recyclés (Kahlert & Bening 2020). Cette dynamique a contribué à l'intensification de la pollution plastique pré-existante dans les milieux terrestres, atmosphériques et aquatiques. Une étude basée sur une estimation annuelle de la production mondiale de 52 milliards de masques a évalué que 1,56 milliard de ces masques ont atteint les océans en 2020, générant une pollution plastique estimée entre 4 680 et 6 240 tonnes (Bondaroff 2020). En raison de leurs composants élastiques, les masques présentent des risques accrus d'emmêlement pour une grande variété de poissons, d'animaux et d'oiseaux. Dans l'environnement, ces masques subissent une fragmentation en particules inférieures à 5 mm, contribuant ainsi à l'amplification de la pollution microplastique à l'échelle mondiale. Dans leur ensemble, la pandémie a contribué à la présence de plus de huit millions de tonnes de déchets plastiques à l'échelle mondiale, avec plus de 25 000 tonnes finissant dans les océans mondiaux (Peng *et al.* 2021). La distribution des déchets plastiques dans les océans varie considérablement selon les régions du monde (**Figure 10**). Environ 81 %



### Focus sur le terme "*missing plastic*"

Selon une étude publiée en 2015 (Van Sebille *et al.* 2015), à peine 1 % des débris plastiques déversés dans les océans ont été collectés et quantifiés, laissant ainsi près de 99 % des plastiques rejetés dans les océans non répertoriés. Le terme "*missing plastic*" est utilisé pour décrire la différence entre la quantité de plastique présumée entrant dans les océans et celle réellement observée.

de la pollution plastique des océans provient d'Asie, tandis qu'environ 8 % sont attribuables à l'Afrique, 5,5 % à l'Amérique du Sud, 4,5 % à l'Amérique du Nord, et la contribution combinée de l'Europe et de l'Océanie est inférieure à 1 %.

Les déchets plastiques dominent le spectre des déchets marins, représentant environ 80 % de la totalité des débris observés, depuis les eaux de surface jusqu'aux fonds marins. La dissémination des déchets plastiques s'opère principalement via l'atmosphère (vent) et les hydrosystèmes (systèmes d'égouts et cours d'eau). Une fois dans ces systèmes de dispersion, les déchets plastiques se trouvent acheminés vers les océans, dans lesquels les courants marins peuvent les disséminer sur de vastes étendues (Janakiram *et al.* 2023). D'après plusieurs études, les eaux douces constituent la principale source de débris plastiques infiltrant les écosystèmes marins (Li *et al.* 2016; Meijer *et al.* 2021) et ce même si les estimations des apports de plastique des rivières vers les océans varient jusqu'à cinq ordres de grandeur (González-Fernández *et al.* 2023).

De grandes quantités de déchets plastiques sont également rejetées dans l'environnement lors de catastrophes naturelles. Ainsi, une dynamique d'infiltration de plastiques dans les écosystèmes marins a été mise en évidence dans plusieurs études qui ont démontré que le dépôt de plastiques, en particulier de microplastiques, dans les sédiments côtiers augmentait suite à la saison des pluies (Lee *et al.* 2013) et que les inondations peuvent accroître la mobilisation du plastique (Roebroek *et al.* 2021), renforçant l'idée que l'origine principale des débris plastiques dans les océans est principalement terrestre. Actuellement, plus de 150 millions de tonnes de déchets plastiques sont présentes dans les océans et, à moins d'une intervention significative, la masse de plastique dans les mers pourrait dépasser celle des poissons d'ici 2050 en termes de masse (MacArthur *et al.* 2016). De plus, Lau *et al.* (2020) prédisent une pollution plastique atteignant 710 millions de tonnes en 2040, triplant la production actuelle (Lau *et al.* 2020). De même, le programme des Nations Unies pour l'environnement prévoit presque un triplement des déchets plastiques rejetés en mer d'ici 2040, ajoutant entre 23 et 37 millions de tonnes de déchets annuels dans les océans. Le plastique s'affirme désormais comme un marqueur géologique clé de l'Anthropocène, une ère géologique définie comme marquée par l'influence humaine (Zalasiewicz *et al.* 2016).

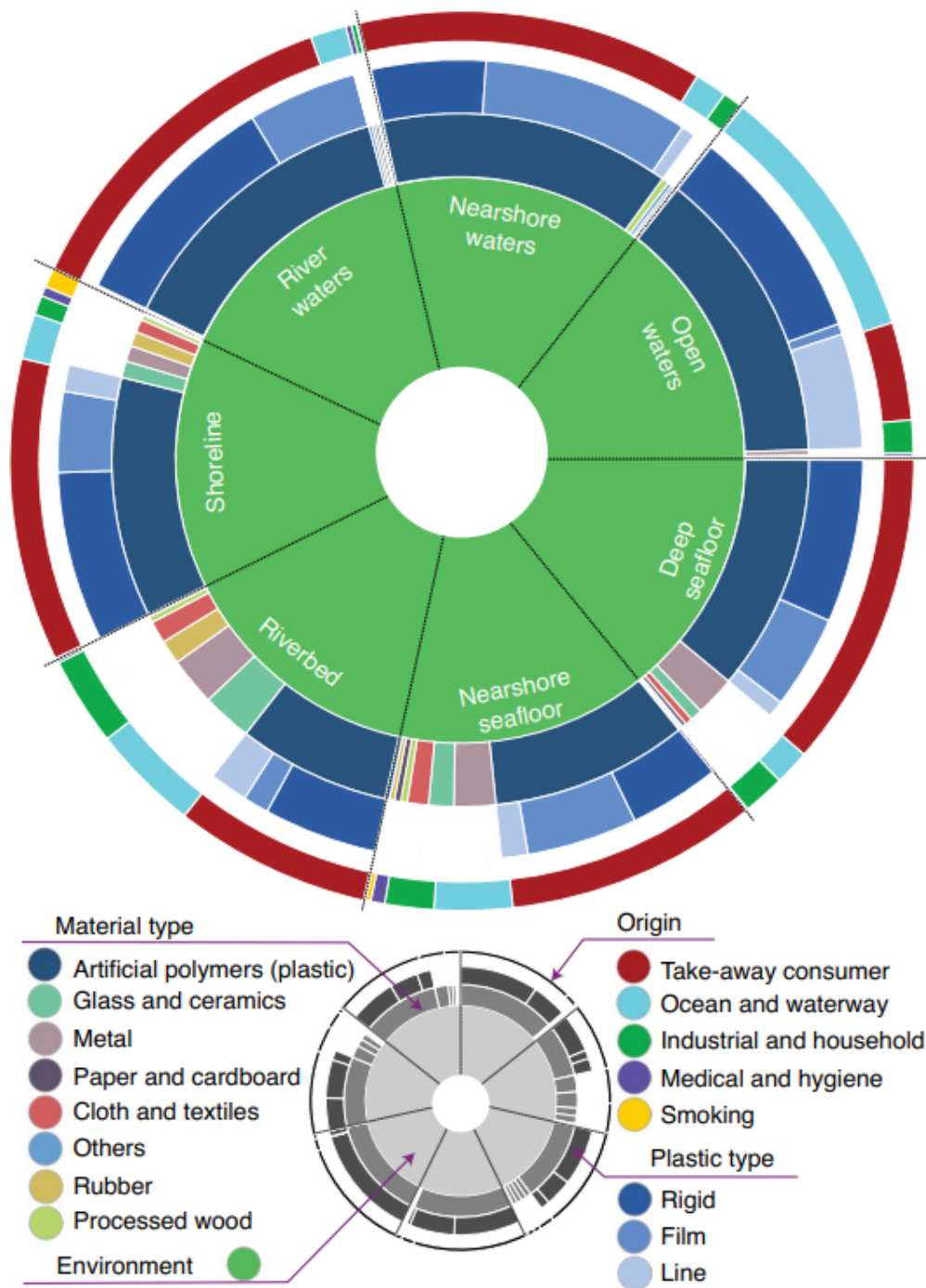


Figure 11. Matériau, type de plastique et origine probable des déchets collectés dans sept grands types d'habitats aquatiques à l'échelle mondiale (Morales-Caselles et al. 2021).

Ce constat du « *missing plastic* » suggère que soit des processus naturels de biodégradation pourraient se produire ou soit des puits importants pour les débris plastiques existent. On estime que près de la moitié de tous les plastiques ont une densité\* plus élevée que celle de l'eau de mer (Kane & Clare 2019). Les fonds marins peuvent donc être représentés comme un puits final pour de nombreux déchets, incluant les plastiques (Woodall *et al.* 2014). Cependant, des recherches récentes ont montré que des écosystèmes côtiers végétalisés tels que les mangroves et les herbiers sous-marins pouvaient accumuler des concentrations élevées de microplastiques. Ces écosystèmes se superposent à des zones fortement polluées par des déchets plastiques, ce qui peut avoir un impact sur la faune qui les habite et les transformer en des réservoirs potentiels de microplastiques. En effet, ils agissent comme des systèmes de filtration efficaces pour ces particules. (Luo *et al.* 2021; de los Santos *et al.* 2021). Le processus rapide de colonisation biologique des plastiques flottants contribue de manière significative à leur mise en suspension, augmentant potentiellement leur densité\* et conduisant à leur sédimentation progressive vers les fonds marins (Li *et al.* 2023). Toutefois, à l'échelle mondiale, environ 136 000 tonnes de déchets plastiques marins s'échouent chaque année sur les côtes, entraînant leur réintroduction dans l'environnement terrestre (Allen *et al.* 2020). Une étude réalisée en 2011 sur la plage de Kamilo, à Hawaï, a révélé que la couche supérieure de sable pouvait contenir jusqu'à 30 % de plastique (en masse) (Carson *et al.* 2011). Parmi les polymères les plus prévalents dans le milieu marin figurent le PE, le PP, le PS et le PET, avec une émergence progressive du polyester et du polyamide (PA), bien que leur distribution varie au sein de la colonne d'eau en fonction de leur densité\*. Les polymères plus légers, comme le PP et le PE, prédominaient en surface de la mer, tandis que les polymères plus denses étaient concentrés dans les couches inférieures, réduisant ainsi leur abondance dans la colonne d'eau (Erni-Cassola *et al.* 2019). Une des raisons de cette prévalence est que ces polymères, le PE et le PP, sont ductiles\* et ne se fragmentent pas facilement.

Les débris marins, comprenant notamment les grands fragments de plastique, proviennent à la fois de la terre et de la mer (**Figure 11**). La pollution plastique d'origine océanique découle principalement des activités liées à l'industrie de la pêche, aux loisirs nautiques et à l'aquaculture.

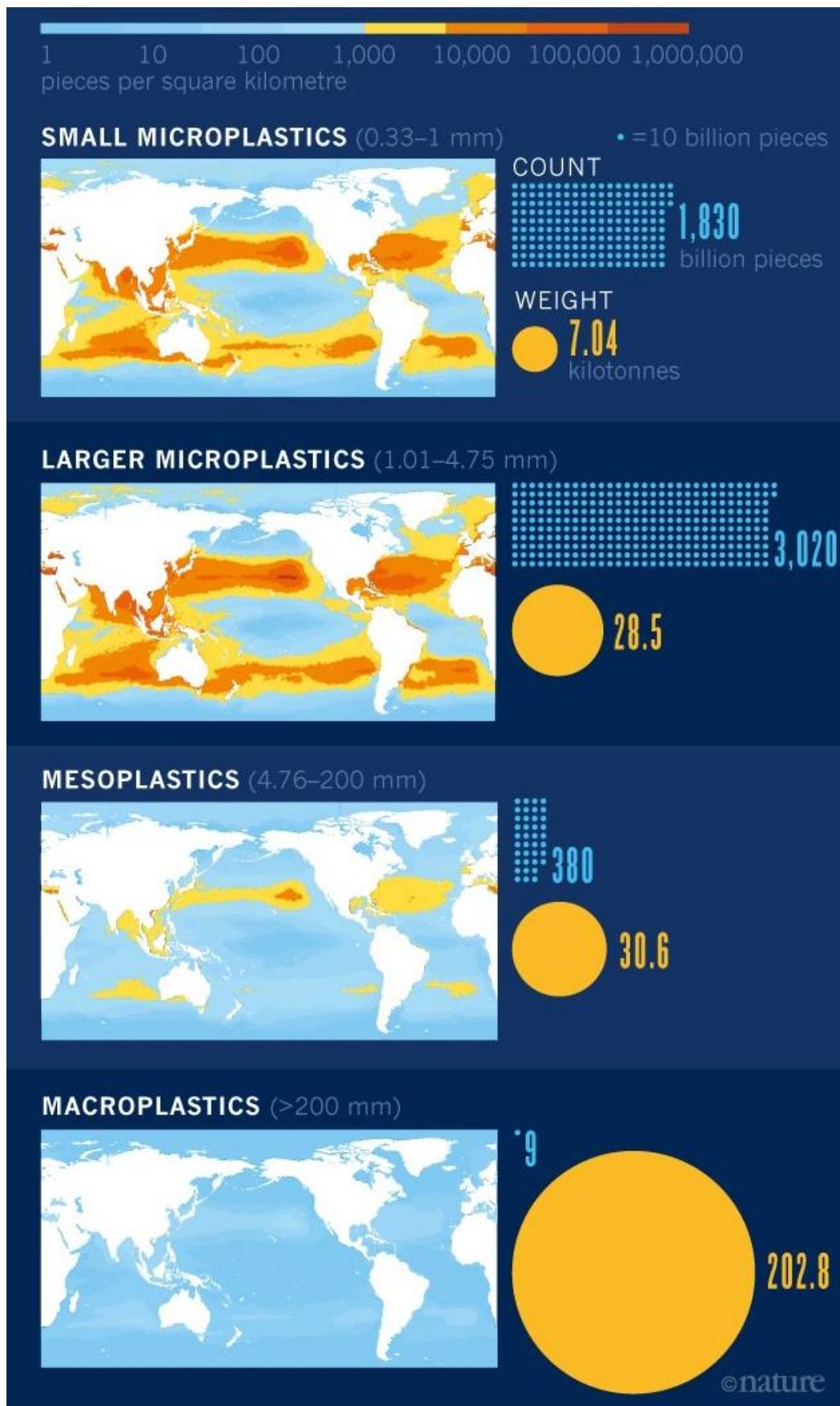
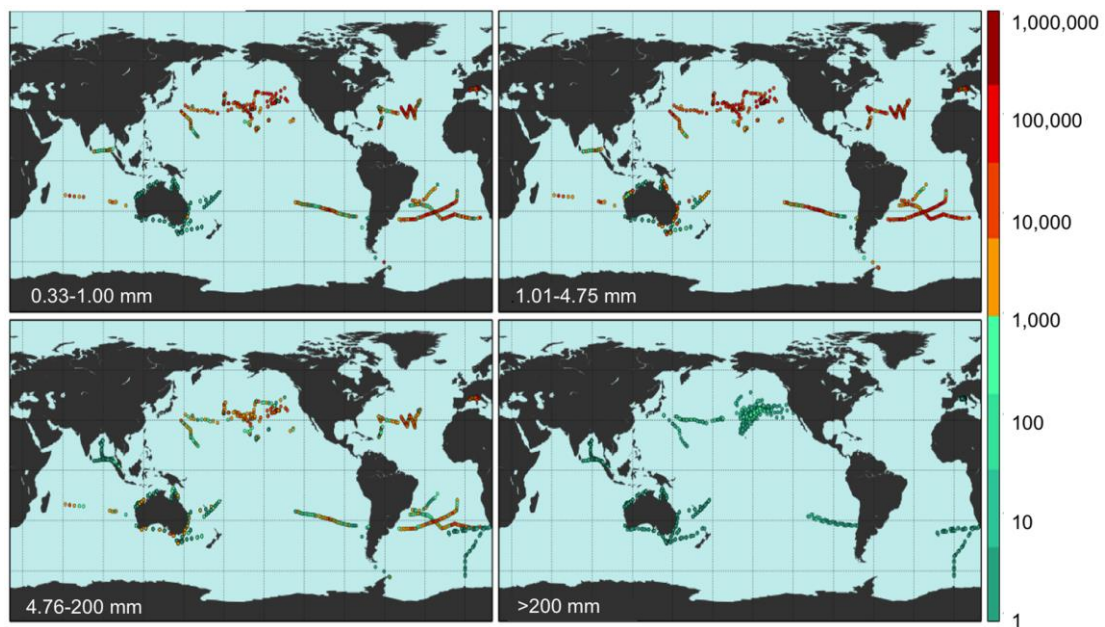


Figure 12. Estimation du nombre de particules plastiques en milieu océanique, du microplastiques aux macroplastiques (Cressey 2016).

La pollution plastique s'est répandue à travers tous les océans, engendrant des répercussions à l'échelle mondiale. Dans l'océan Pacifique, il est estimé qu'au minimum 21 290 tonnes de microplastiques flottent en surface (Law *et al.* 2014). En termes de quantité, les microplastiques sont les plus nombreux ; cependant, en ce qui concerne le poids, ce sont les macroplastiques qui dominent (**Figure 12**).

Une fois déversés dans les océans, les déchets plastiques se dispersent de manière inégale (**Figure 12, Figure 13**). Ils se déplacent au gré des courants et ont une tendance à s'agréger dans des zones spécifiques connues sous le nom de "gyres océaniques". Ces gyres subtropicaux, au nombre de cinq (Atlantique Nord et Sud, Pacifique Nord et Sud, et Océan Indien), représentent des points de convergence des courants marins. Ils agissent comme des pièges, capturant au fil du temps les macroplastiques et les microplastiques qui s'y accumulent. Une distribution mondiale du plastique en surface de l'océan tend à se concentrer principalement dans les zones de convergence de chacun de ces cinq gyres subtropicaux, avec une densité\* comparable, comme l'a établi une étude menée par Cózar *et al.* (2014). Cependant, la quantification des déchets plastiques flottants ne permet pas de saisir l'ampleur réelle de la pollution plastique dans les océans, car cette méthode n'inclut pas les débris plastiques enfouis dans les sédiments ou dispersés le long de la colonne d'eau.

Une région de concentration significative de plastiques flottants a été identifiée dans la partie orientale du gyre subtropical du Pacifique Nord (Law *et al.* 2010). Cette zone a été décrite comme étant un "gyre au sein d'un gyre" et est fréquemment désignée sous le nom de "Grande Zone d'Accumulation de Déchets du Pacifique", située dans les eaux subtropicales entre la Californie et Hawaï (Lebreton *et al.* 2018). En 2001, 334 271 morceaux de plastique/km<sup>2</sup> ont été estimés au sein de ce gyre (Moore *et al.* 2001). Les microplastiques constituaient 8 % de la masse totale; cependant, ils représentaient 94 % des 1,8 billions (estimés entre 1,1 et 3,6 billions) de morceaux flottant dans la zone (Lebreton *et al.* 2018). L'abondance du plancton était environ cinq fois supérieure à celle du plastique, mais la masse du plastique était environ six fois supérieure à celle du plancton (Moore *et al.* 2002). La région affiche des niveaux de concentration relativement élevés de déchets plastiques en raison principalement des importantes sources de pollution plastique en Asie, alimentées par le système de courants de la Kuroshio Extension (KE), et de l'augmentation de l'activité de pêche



**Figure 13. Sites de prélèvement où la densité de microplastiques a été déterminée (Eriksen et al. 2014).**

Densité de comptage (pièces  $\text{km}^{-2}$  ; voir barre de couleur) des débris plastiques marins mesurés à 1571 stations à partir de 680 traits de filet et 891 transects d'étude visuelle pour chacune des quatre classes de taille de plastique (0,33-1,00 mm, 1,01-4,75 mm, 4,76-200 mm, et >200 mm).

dans l'océan Pacifique. Il est à noter que 46 % de ces débris plastiques proviennent de filets de pêche (Lebreton *et al.* 2018). Une autre zone d'accumulation, le gyre subtropical du Pacifique Sud, où la présence d'un dépôt de déchets plastiques est manifeste, présente une densité de 26 898 particules/km<sup>2</sup>, dont les dimensions varient de 0,355 mm à plus de 4,750 mm (Eriksen *et al.* 2013). Cette forte accumulation de débris plastiques dans le gyre subtropical du Pacifique Sud pourrait être due à l'apport occasionnel de particules depuis les côtes d'Indonésie et d'Équateur via les courants frontaliers (**Figure 13**) (Eriksen *et al.* 2013).

Des microplastiques et d'autres débris plastiques ont également été identifiés dans les zones polaires (Isobe *et al.* 2017; Lacerda *et al.* 2019; Reed *et al.* 2018). Les polymères PE, PP et PS sont les plus fréquents dans les eaux de l'Antarctique, et les fibres et fragments constituent la majorité des microplastiques découverts dans l'océan Austral (Isobe *et al.* 2017; Lacerda *et al.* 2019). L'océan Arctique est également impacté, plus précisément la glace marine de l'Arctique, dans laquelle les concentrations de microplastiques étaient supérieures de plusieurs ordres de grandeur à celles précédemment rapportées dans les eaux de surface hautement contaminées (Kanhai *et al.* 2018; Morgana *et al.* 2018; Obbard *et al.* 2014). A une autre échelle, des échantillons de sédiments collectés dans la fosse des Mariannes, la partie la plus profonde de la planète, contenaient des particules plastiques (Peng *et al.* 2020). De fait, il apparaît que les environnements océaniques exempts de plastiques ne soient plus une réalité, comme le soulignent de manière constante les études récentes qui révèlent la présence de microplastiques, quelle que soit l'habitat marin examiné.

### C. Transfert de polluants organiques persistants (POP)

En dernier lieu, outre l'impact des polymères plastiques lié à leurs propriétés intrinsèques, ces matrices présentent également un risque potentiel de transfert et d'accumulation de produits chimiques nocifs ou polluants organiques persistants (POP), qu'ils soient i) constitutifs des plastiques (additifs) et/ou ii) adsorbés sur ces derniers dans l'environnement. Le transport mondial des microplastiques suscite des préoccupations quant à son impact sur la dispersion à grande échelle des produits chimiques associés aux particules dans l'environnement en raison de leur rapport surface/volume plus élevé que les méso- et macroplastiques. N'étant pas chimiquement liés au polymère, ces additifs sont lixiviés en





premier et peuvent se dégrader en molécules toxiques et persistantes (Hermabessiere *et al.* 2017). La libération d'additifs semble plus efficace en surface des océans qu'en profondeur, avec une inhibition de la lixiviation d'additifs organiques sous pression hydrostatique élevée (Fauvelle *et al.* 2021). Selon les estimations, entre 35 et 917 tonnes d'additifs sont potentiellement lessivées dans les océans chaque année (Suhrhoff & Scholz-Böttcher 2016).

L'effet chimique lié aux composés constitutifs peut-être attribué aux monomères constituant le plastique, ainsi qu'aux additifs chimiques incorporés pendant leur fabrication pour améliorer leurs propriétés physiques, telles que la couleur, la souplesse, la stabilité, l'imperméabilité à l'eau, la résistance au feu et la protection contre les ultraviolets (Marturano *et al.* 2017). Plus de 10 000 substances chimiques sont utilisées dans la production de plastiques, dont 2 400 sont particulièrement préoccupantes car persistantes, bioaccumulables ou toxiques selon l'Union Européenne (Wiesinger *et al.* 2021). Ces composés extrêmement toxiques peuvent être des agents cancérigènes, des neurotoxiques et des perturbateurs endocriniens tels que les phtalates, les bisphénols (BP), les substances per- et polyfluoroalkyles (PFAS), les retardateurs de flamme bromés et organophosphorés. Aussi, les esters de phtalate (PAE) sont une classe de composés synthétiques largement utilisés comme plastifiants et solvants dans divers produits commerciaux, notamment les plastiques en polychlorure de vinyle (PVC), dans lesquels ils sont ajoutés pour améliorer la flexibilité et la durabilité du polymère, représentant jusqu'à 60 % du poids du produit (Net *et al.* 2015). Étant donné leur utilisation répandue, les PAE sont parmi les substances chimiques les plus couramment en contact avec la population. Une particularité des PAE est qu'ils ne sont pas chimiquement liés à la matrice polymère, ce qui les rend susceptibles d'être libérés aisément dans l'environnement. Des études récentes (Kirstein *et al.* 2018; Pinto *et al.* 2019; Silva *et al.* 2023) indiquent que le PVC abrite des communautés microbiennes distinctes par rapport à d'autres plastiques, probablement en raison de différences de composition chimique (y compris des additifs) entre les polymères ou en raison de contaminants adsorbés (Lemonnier *et al.* 2022). Il est plausible que ces composés résiduels puissent être libérés lorsque le plastique se dégrade, ce qui pourrait soit stimuler la croissance bactérienne en fournissant des nutriments provenant des additifs lessivés, soit la limiter en raison de leur toxicité (Chen *et al.* 2019; Fauvelle *et al.* 2021). Une étude a confirmé expérimentalement que les lixiviats de PVC pouvaient inhiber la croissance de la cyanobactérie *Prochlorococcus* sp., l'organisme



photosynthétique le plus abondant sur Terre et un contributeur essentiel à la production primaire mondiale et au cycle du carbone (Tetu *et al.* 2019) ou réduire celle des cyanobactéries du genre *Phormidesmis* (Lemonnier *et al.* 2022). Il a été constaté également que les phtalates ont un impact négatif sur la durée de vie de *Daphnia magna* (Seyoum & Pradhan 2019). Ces résultats suggèrent que les phtalates pourraient également avoir des impacts potentiellement néfastes sur les organismes aquatiques. Par conséquent, l'inhibition de certaines communautés bactériennes pourrait indirectement favoriser l'établissement d'autres communautés microbiennes, telles que celles composées de champignons, par exemple.

Récemment, des études ont également démontré la capacité des microplastiques à adsorber des polluants environnementaux à leur surface, y compris des contaminants organiques hautement hydrophobes tels que les polluants organiques persistants (POP et même des métaux lourds). Il a été rapporté que les conditions environnementales, telles que la concentration en matière organique dissoute, le pH et la salinité, affectent la capacité de sorption des polluants des microplastiques (Amelia *et al.* 2021). D'autres polluants émergents, comme les composés actifs pharmaceutiques (PhAC), les antibiotiques et les filtres UV, ont également suscité l'intérêt de la communauté scientifique (Ho & Leung 2019; Li *et al.* 2018). Il semble donc que les microplastiques, de par leur rapport surface/volume plus élevé, aient des effets toxiques plus prononcés que les macroplastiques (Bucci *et al.* 2020). Le processus de vieillissement du plastique semble aussi jouer un rôle dans l'association accrue des microplastiques avec des produits chimiques organiques et des métaux, intensifiant leur toxicité (Horton 2022). Cette interaction pourrait être le facteur le plus alarmant de la consommation de plastique à l'échelle de la population, car les microplastiques peuvent faciliter la pénétration de ces polluants dans la chaîne trophique. Cependant, la contribution spécifique des microplastiques à l'accumulation de produits chimiques tels que les POP chez les organismes marins fait l'objet de débats. Plusieurs études ont démontré que des facteurs tels que le type de polymère, le pH et la salinité influent sur les capacités d'adsorption des antibiotiques et des métaux par les microplastiques (Wang *et al.* 2023a).



Néanmoins, une étude a révélé une diminution de la toxicité de POP sur des organismes marins en présence de microplastiques. Le PCB28 est un composé xénobiotique à 3 atomes de chlore, capable d'induire des lésions tissulaires, une apoptose dépendante des caspases 3/8, un stress oxydatif, une diminution des réserves énergétiques et des altérations du comportement de nage chez les méduses. La présence de microplastiques a efficacement inhibé la biotoxicité du PCB28 sur le modèle « méduse » (Hu *et al.* 2023) en raison d'une affinité de liaison pour ce composé. De plus, grâce à la présence de chimiorécepteurs, ces particules plastiques peuvent être identifiées par les méduses comme des "particules non comestibles" et donc être rapidement éliminées. A contrario, une étude a examiné la présence de polybromodiphényléthers (PBDE) dans les tissus de poissons ; les PBDE jouant un rôle majeur en tant que retardateurs de flamme bromés largement utilisés, notamment dans l'industrie textile. Les résultats ont montré une corrélation positive entre la densité des débris plastiques et la charge corporelle en PBDE chez les poissons (Lohmann 2017). Les PBDE peuvent donc être transférés des plastiques aux organismes, ici le modèle poisson, par le biais de l'ingestion, ce qui en fait un indicateur de l'exposition des animaux marins aux déchets plastiques (Rochman *et al.* 2014). Cela renforce l'idée qu'en fonction de POP et des organismes, les impacts peuvent être diamétralement opposés.

Les plastiques comptent diverses substances chimiques à des concentrations variables, et les effets ou conséquences qu'ils engendrent peuvent découler aussi bien des éléments constitutifs majeurs du plastique (polymères) que des additifs (plastifiants) ou des produits chimiques présents dans l'environnement et adsorbés par le plastique, modifiant la toxicité et la biodisponibilité.



**Figure 14.** Exemples d'enchevêtrement en Nouvelle-Zélande : (a) Karoro (goéland brun, Larus dominicanus) capturé et accroché à un filament de pêche en nylon; (b) une otarie à fourrure néo-zélandaise piégée dans un filet abandonné et (c) Ghost fishing - engins de pêche abandonnés dragués à plus de 100 m de profondeur sur le plateau d'Otago (Gregory 2009).

## D. Impacts sur les organismes marins et en santé humaine

### 1. Faune marine

La pollution plastique constitue un enjeu planétaire qui exerce une pression anthropique supplémentaire sur la faune marine, s'ajoutant ainsi aux défis existants tels que la surpêche et le changement climatique. Les macroplastiques et les microplastiques ont le potentiel de perturber les écosystèmes marins en affectant la biodiversité, en perturbant les chaînes alimentaires et en introduisant des produits chimiques toxiques dans l'environnement (Gola *et al.* 2021). Les plastiques de toutes tailles sont impliqués, mais à mesure que la taille diminue, leur accessibilité pour un plus grand nombre d'organismes augmente. Ainsi, à mesure que la pollution plastique marine s'intensifie, les interactions avec la vie marine augmentent également, même dans des régions éloignées comme l'Arctique (Bergmann *et al.* 2022; Kanhai *et al.* 2018; Morgana *et al.* 2018) ou l'Antarctique (Caruso *et al.* 2023; Lacerda *et al.* 2019; Reed *et al.* 2018). Par exemple, des études ont détecté la présence de microplastiques dans les excréments des manchots papous en Antarctique, confirmant leur ingestion (Bessa *et al.* 2019). Le transport de déchets colonisés sur de longues distances constitue une menace supplémentaire pour les écosystèmes, en introduisant des espèces envahissantes (Gracia and Rangel-Buitrago, 2020).

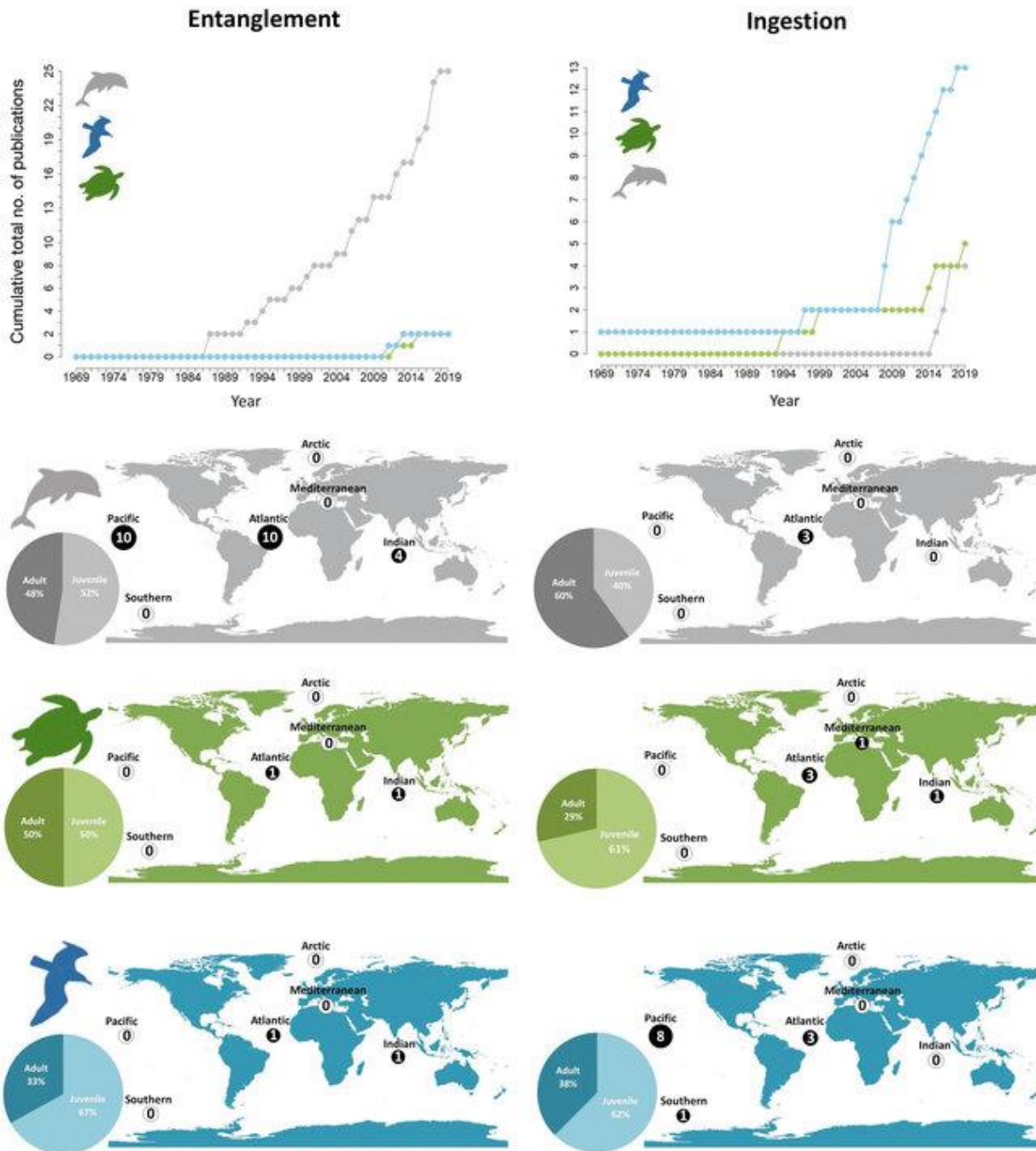
Alors que les macroplastiques de grande taille (supérieure à 25 mm) sont moins susceptibles d'être ingérés par diverses espèces marines, ils peuvent causer l'enchevêtrement dans des fils ou filets en plastique (Gilman *et al.* 2021; Good *et al.* 2010) (**Figure 14**). Chaque année, environ 640 000 tonnes de matériel de pêche se retrouvent dans les océans (Richardson *et al.* 2021). De nos jours, alors que la Norvège est l'un des plus grands fournisseurs et exportateurs de produits de la mer au monde, une recherche menée par Deshpande *et al.* (2020) révèle que chaque année, environ 380 tonnes de plastique provenant d'engins de pêche sont perdus en mer (Deshpande *et al.* 2020). Les filets de pêche, notamment ceux fabriqués à partir de matières synthétiques non biodégradables, telles que le nylon, peuvent persister dans l'écosystème marin pendant de longues périodes (An *et al.* 2023). Ces équipements abandonnés ont la capacité de dériver passivement sur de vastes distances, flottant à différentes profondeurs dans les eaux marines, engendrant ainsi une "pêche fantôme".





Cette situation peut induire des dommages en provoquant l'emmêlement d'espèces en danger ou menacées d'extinction. A titre d'exemple, étant donné le déclin de 71 % des populations mondiales de requins et de raies au cours des cinquante dernières années (Pacoureaux *et al.* 2021), les risques pesant sur les populations de requins peuvent être considérablement intensifiés par les morsures d'hameçons provenant des palangres ainsi que par l'enchevêtrement des requins dans les filets perdus (Parton *et al.* 2019; Richardson *et al.* 2022). De plus, grâce à un programme de science participative et de conservation, 132 cas de tortues olivâtres prises au piège dans des filets fantômes ont été recensés en seulement un an (Stelfox *et al.* 2020). Une autre étude conduite au Maroc met en évidence les effets néfastes des déchets marins sur la biodiversité marine locale (Mghili *et al.* 2023). Les cétacés se trouvent être les plus vulnérables aux enchevêtrements, suivis des tortues marines, des poissons, des oiseaux marins et des élasmobranches. Par ailleurs, la "pêche fantôme" exerce des dommages sur les écosystèmes des récifs peu profonds, causant un impact direct sur les coraux ramifiés et perturbant les interactions cruciales entre coraux et poissons (Beneli *et al.* 2020). Dans la majorité des cas d'enchevêtrement signalés, les engins de pêche abandonnés ou égarés se révèlent être la principale source, soulignant l'importance de renforcer la législation existante afin de préserver la vie marine en danger et d'instaurer des actions visant à réduire les déchets issus de la pêche (Mghili *et al.* 2023).

A l'inverse, les effets néfastes des microplastiques sont liés à leur ingestion par un large éventail d'organismes marins (Nanthini devi *et al.* 2022), allant des organismes planctoniques (Markic *et al.* 2020; Savoca *et al.* 2021; Traboni *et al.* 2023) et des poissons jusqu'aux oiseaux marins (Wilcox *et al.* 2015), aux mammifères marins (Fossi *et al.* 2018) et aux organismes des profondeurs océaniques (Taylor *et al.* 2016b), par accumulation tout au long de la chaîne trophique. L'enchevêtrement et/ou l'ingestion de plastique ont été documentés chez 914 espèces marines, incluant 44% des oiseaux marins, 56% des mammifères marins et la totalité des tortues marines (Kühn & van Franeker 2020). Ce nombre a triplé depuis 1997 (Laist 1997) même si ce constat est à pondérer au vu de l'évolution des méthodes d'analyse.



**Figure 15.** Nombre d'études publiées et évaluées par des pairs qui ont examiné les effets de la pollution plastique (enchevêtrement et ingestion) sur les mammifères marins (gris), les tortues de mer (vert) et les oiseaux de mer (bleu) au niveau de la population, publiées entre 1969 et 2020 (diagrammes de dispersion), par classe d'âge (diagrammes circulaires) et par bassin océanique (cartes) (Senko et al. 2020).

De plus, il semble que les populations juvéniles soient plus vulnérables à l'impact de la pollution plastique (Collard *et al.* 2022; Moon *et al.* 2022; Senko *et al.* 2020) (**Figure 15**). Par exemple, d'après une étude, il a été observé que les jeunes tortues pélagiques ont tendance à ingérer davantage de débris plastiques que les tortues benthiques adultes. Cette disparité s'explique par le fait que les jeunes tortues pélagiques sont plus exposées aux débris flottants et ont une plus grande probabilité de les consommer, contrairement aux tortues benthiques plus âgées qui plongent plus profondément et plus longtemps, réduisant ainsi leur risque d'interaction avec ces débris (Clukey *et al.* 2017). Aussi, les premiers stades de développement des poissons les exposent davantage au risque d'ingérer du plastique. Il semble que la phase ontogénétique soit le principal facteur qui influence cette ingestion de plastique (McGregor & Strydom 2020).

La pollution plastique peut également avoir des répercussions sur les habitats terrestres et aquatiques essentiels à la recherche de nourriture par la faune. Par exemple, les habitats essentiels pour les tortues sont impactés par les déchets plastiques, pouvant altérer les propriétés des nids, affecter la température et la perméabilité des sédiments, ainsi que compromettre les ratios de genre et le succès de reproduction des nouveau-nés (Nelms *et al.* 2016). Cela entraîne des répercussions au niveau de la population et peut également entraîner l'enchevêtrement des femelles en nidification et des nouveau-nés (Nelms *et al.* 2016). Les plages de nidification sont particulièrement touchées par la présence de plastiques, ce qui peut nuire aux nouveau-nés de tortues vertes tentant d'atteindre la mer, tandis que la quantité de déchets présents sur la plage est en corrélation négative avec le taux d'éclosions réussies (Ozdilek *et al.* 2006). La présence de plastique a même été observée dans les nids d'oiseaux. Les récifs coralliens, qui servent d'abris, de sites de nutrition et de reproduction, sont également affectés par cette pollution plastique (Patterson Edward *et al.* 2020). Sur l'île de Mayotte, une étude a estimé que 92% des déchets marins sur les récifs frangeants étaient constitués de plastique, dont 66% étaient des engins de pêche (Mulochau *et al.* 2020). De plus, la moitié des colonies coralliennes en contact avec des déchets ont montré des dommages altérant leur santé, principalement sous forme de colonies endommagées ou cassées (Mulochau *et al.* 2020). Les particules de plastique, à des concentrations élevées, sont également susceptibles d'affecter la photosynthèse et la croissance des microalgues (Sjollema *et al.* 2016), ce qui aurait des conséquences en cascade sur l'ensemble des organismes

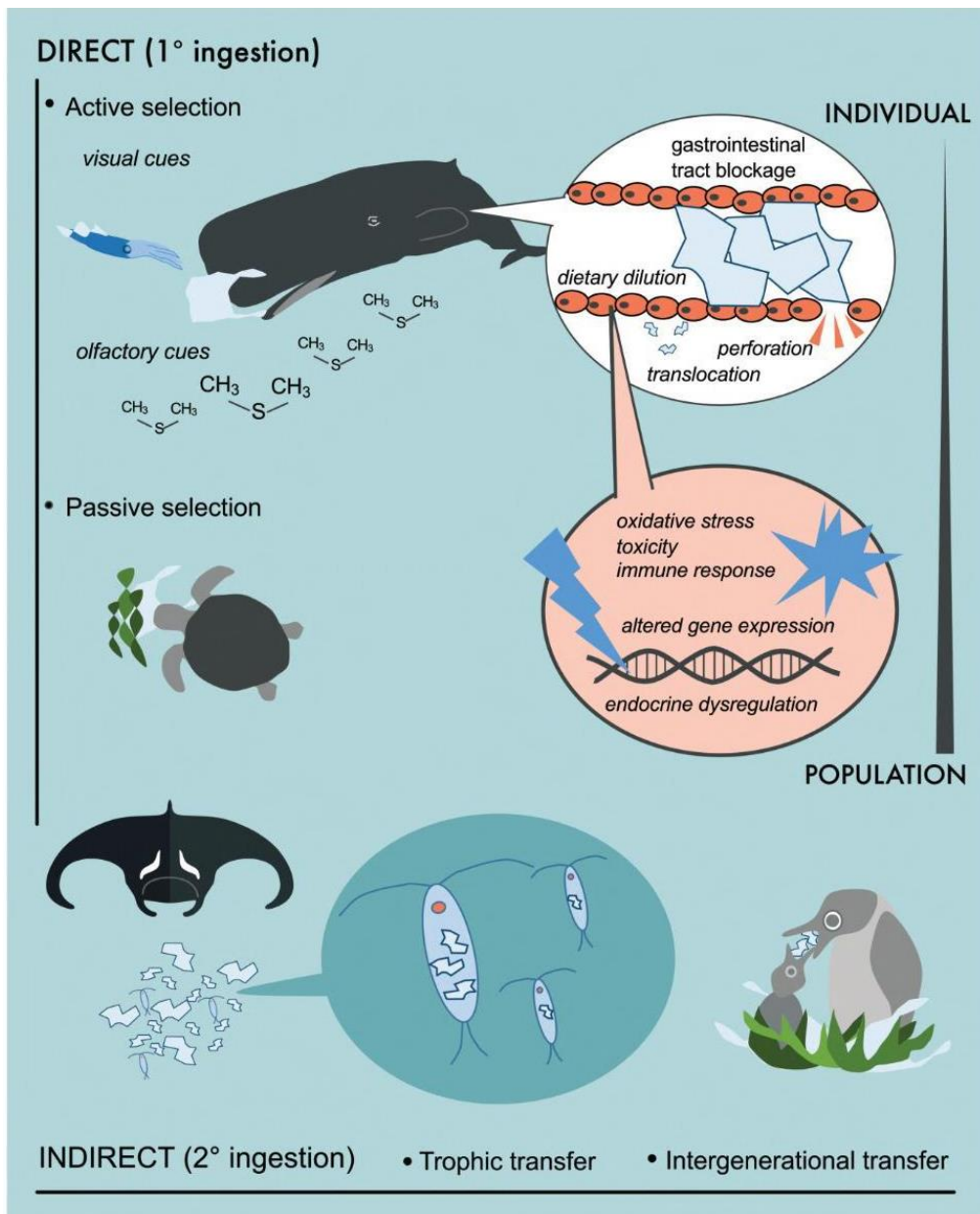


Figure 16. Les voies d'ingestion du plastique et les impacts potentiels (Nelms et al. 2023).

dépendant des producteurs primaires. Il faut noter que ces effets indésirables augmentent avec la diminution de la taille des particules (Sjollema *et al.* 2016).

Certaines espèces sont considérées comme des indicateurs clés de la santé des écosystèmes marins et jouent un rôle dans l'étude de l'impact de la pollution plastique sur la faune marine. En raison de leur tendance à ingérer des débris, les tortues marines sont d'excellents bioindicateurs de la pollution par les déchets marins (Lynch 2018; Moon *et al.* 2022). Par exemple, dans le sud-ouest de l'océan Indien, les taux d'ingestion de plastiques chez les tortues caouannes (*Caretta caretta*), ne sélectionnant aucune catégorie ou couleur d'article en plastique, ont augmenté de manière marquée ces dernières années, passant de 25% en 2007 à 79% en 2021 (Thibault *et al.* 2023). De même, les requins bleus (*Prionace glauca*) sont utilisés comme bioindicateurs de la santé et de la pollution dans l'océan Atlantique (Alves *et al.* 2016). En surveillant les estomacs des fulmars boréaux (*Fulmarus glacialis*) échoués en mer du Nord, il est possible de refléter la qualité de leur environnement en termes de pollution plastique (Van Franeker *et al.* 2021).

Aussi, les bivalves, tels que les moules, jouent un rôle essentiel en filtrant l'eau à travers leurs branchies pour i) extraire l'oxygène de l'eau, et ii) se nourrir de phytoplancton et d'autres particules acheminées vers les palpes labiaux et la bouche. Les moules sont particulièrement efficaces dans cette filtration, étant capables de capturer des particules allant de 1 à 25 micromètres, avec une capacité de filtrage allant jusqu'à 20 à 25 litres d'eau par jour pour les *Mytilus* spp. (Ghiglione *et al.* 2023). En outre, les moules sont utilisées dans des programmes de surveillance environnementale en raison de leur capacité à accumuler des polluants, y compris des microplastiques, parfois à des concentrations plus élevées que celles présentes dans leur environnement. Cette caractéristique suscite un intérêt croissant dans la communauté scientifique, qui les envisage comme de potentiels bioindicateurs de la pollution par les microplastiques. Ainsi, des études récentes utilisent les moules comme des indicateurs efficaces de la pollution par les microplastiques des écosystèmes aquatiques (Abelouah *et al.* 2023; Atamanalp *et al.* 2023; Li *et al.* 2019a). L'absorption de plastiques par la faune marine peut se produire directement ou indirectement impliquant des transferts trophiques et intergénérationnels (Horton 2022) (**Figure 16**).



#### a) Voies directes

L'ingestion peut être directe, également appelée ingestion primaire (Ryan 2019). La similitude entre les particules plastiques et les proies naturelles peut conduire à des erreurs alimentaires. Les animaux marins ingèrent ces particules qui s'accumulent dans leurs estomacs, provoquant malnutrition, obstruction intestinale, lixiviation de monomères et d'additifs, dont certains se sont révélés toxiques, cancérigènes ou perturbateurs endocriniens (cf. *Partie II.C. Transfert de polluants organiques persistants*), et pouvant parfois conduire à la mort. Les effets létaux et sublétaux au niveau individuel comprennent la noyade, la famine, les lésions gastro-intestinales, la malnutrition, les blessures physiques, la mobilité réduite et le stress physiologique, entraînant une réduction de l'acquisition et de l'assimilation de l'énergie, une détérioration de la santé, des troubles de la reproduction et la mortalité (Senko *et al.* 2020). Par exemple, une baleine bleue (*Balænoptera musculus*) se nourrissant de krill peut ingérer jusqu'à 10 millions de microplastiques par jour, tandis qu'une baleine à bosse (*Megaptera novaeangliae*) consommant du poisson pourrait en ingérer environ 200 000 (Kahane-Rapport *et al.* 2022). Un autre exemple est donné chez les organismes filtreurs, les huîtres creuses du Pacifique (*Magallana gigas*), qui ingèrent des microplastiques pendant qu'elles se nourrissent, sont susceptibles d'être affectées par la pollution des microplastiques. Après 2 mois d'exposition aux microplastiques à des concentrations similaires à celles trouvées dans les sédiments où vivent ces organismes, les microplastiques ont provoqué des modifications de l'alimentation et des perturbations de la reproduction chez les huîtres, produisant 41% de larves en moins que celles d'un groupe témoin (Susarellu *et al.* 2016). D'ici 2050, (Wilcox *et al.* 2015) prévoient que 99 % de toutes les espèces d'oiseaux marins pourraient avoir du plastique dans leur tube digestif.

#### b) Voies indirectes

L'ingestion peut également se produire de manière indirecte, appelée l'ingestion secondaire, par le biais de proies contaminées (Ryan 2019). Lorsque de petits organismes ingèrent des microplastiques, ces particules peuvent s'accumuler le long de la chaîne alimentaire. Les prédateurs au sommet de cette chaîne, comme les grands poissons prédateurs et les mammifères marins, peuvent finir par ingérer des quantités considérables de plastiques. Par exemple, la consommation de zooplancton contenant des microplastiques peut entraîner l'ingestion de 2 à 7 particules de microplastiques par jour par les saumons juvéniles sur la côte





de la Colombie-Britannique, et jusqu'à 91 particules de microplastique par jour chez les adultes (Desforges *et al.* 2015). Dans une étude menée par Nelms *et al.* (2018), des échantillons d'excréments de phoques gris (*Halichoerus grypus*) en captivité ont été analysés, ainsi que l'ensemble du tube digestif du maquereau sauvage (*Scomber scombrus*) dont ils se nourrissent. Cette étude a révélé la présence de microplastiques dans les poissons et dans les excréments de phoques. Le transfert trophique peut ainsi représenter une voie indirecte, mais significative, d'ingestion de microplastiques pour toute espèce, dont l'écologie alimentaire implique la consommation de proies entières. Cette ingestion affecte donc tous les niveaux de la chaîne alimentaire marine, des plus petites proies aux prédateurs supérieurs, menaçant ainsi la stabilité des écosystèmes marins et des systèmes trophiques. De plus, le transfert intergénérationnel se produit lorsque des particules de plastique ingérées par des animaux adultes sont transmises involontairement à leurs petits lors de l'alimentation.

De grandes quantités de plastique ingérées peuvent également affecter la flottabilité d'un animal, par exemple les tortues, les empêchant parfois de plonger et conduisant ainsi à la famine (Ryan 2019). De plus, lorsque les espèces accumulent d'importantes quantités de plastique dans leur estomac, cela crée une fausse sensation de satiété, réduisant leur appétit et donc leur consommation de nourriture (Ryan 2019). Les organismes marins peuvent s'enchevêtrer dans la pollution lorsqu'ils cherchent un abri ou par curiosité. Les mammifères marins, par exemple, sont l'un des groupes les plus étudiés et potentiellement les plus touchés par l'enchevêtrement (Kühn & van Franeker 2020), qui peut entraîner des lacérations graves, une perte de membres ainsi que des difficultés respiratoires, pouvant aboutir à la noyade ou à la mort par famine, comme observé avec des baleines à fanons (Cassoff *et al.* 2011). Une exposition accrue aux prédateurs peut également se produire si le matériel plastique entrave les mouvements de l'animal ou s'il développe des infections suite à des lésions tissulaires importantes. Un stress physiologique peut également survenir suite à un enchevêtrement, nécessitant une dépense d'énergie supplémentaire en termes de locomotion ou un temps de repos prolongé (Senko *et al.* 2020).

Également, des études ont démontré que certains oiseaux de mer et tortues marines pratiquent une consommation sélective basée sur la couleur et le type de plastique. Par exemple, les tortues benthiques semblent avoir une préférence pour les objets en plastique

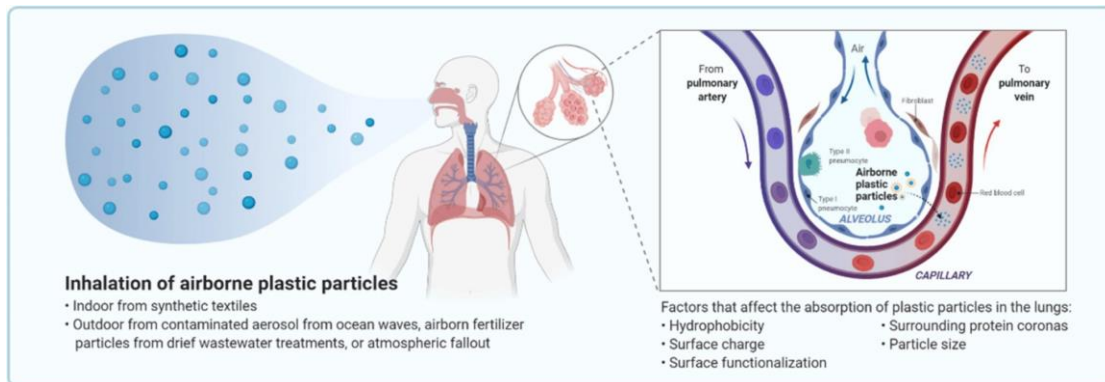


souple, de couleur blanche, même si ces derniers dominent les débris marins flottants (Clukey *et al.* 2017), probablement parce qu'ils ressemblent à des méduses et à d'autres zooplanctons gélatineux, qui font partie de leur régime alimentaire naturel. De même, la plupart des débris plastiques ingérés par les oiseaux de mer flottent, ce qui est cohérent avec leur mode de vie pélagique. Une observation intéressante a été faite concernant le mullet cabot (*Mugil cephalus*), qui ingère rapidement les fibres microplastiques de couleur verte, car elles ressemblent fortement au plancton marin, un élément habituel de son alimentation (McGregor & Strydom 2020). La couleur des microplastiques peut donc jouer un rôle déterminant dans la façon dont le biote marin les assimile, car ces organismes considèrent souvent les microplastiques comme de la nourriture potentielle (Narayanan 2023). Ces découvertes soulignent l'importance de comprendre comment les caractéristiques physiques des microplastiques influencent leur ingestion par les organismes marins et soulèvent des préoccupations concernant les conséquences potentielles sur la santé des écosystèmes marins.

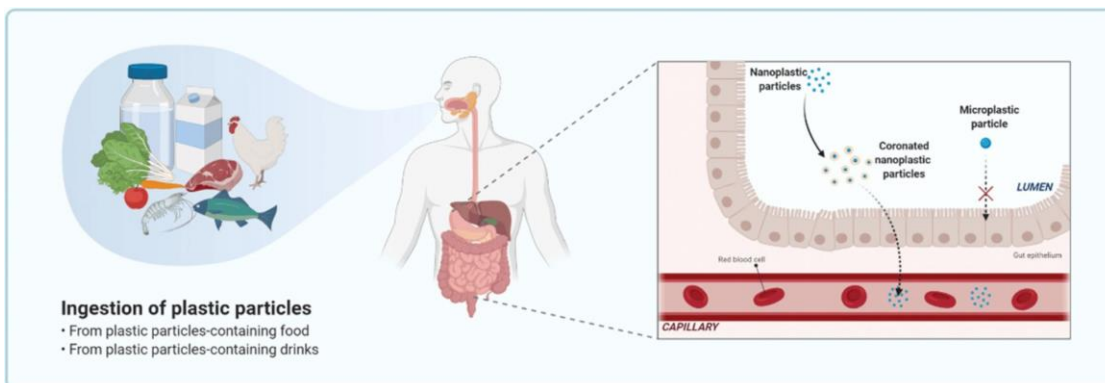
## 2. Santé humaine

L'omniprésence des particules plastiques soulève des interrogations quant à l'exposition humaine à ces éléments. Les caractéristiques physico-chimiques des microplastiques, tant intrinsèques qu'extrinsèques, jouent un rôle crucial dans leur potentiel écotoxicologique (Lambert *et al.* 2017). En outre, ces propriétés sont influencées par les conditions environnementales et les processus de dégradation (Lambert *et al.* 2017). Une étude d'Hüffer *et al.* (2018) a réalisé une simulation accélérée du vieillissement par UV de microplastiques en polystyrène. L'analyse des propriétés physiques et chimiques a révélé que ce vieillissement induisait une oxydation significative de la surface et une formation de microfissures localisées, augmentant ainsi la probabilité d'interactions avec le biote et la sorption de polluants organiques (Hüffer *et al.* 2018; Liu *et al.* 2021).

Trois voies principales d'entrée des microplastiques et nanoplastiques dans le corps humain sont identifiées (Bhat *et al.* 2023; Yee *et al.* 2021).



**Figure 17. Entrée des particules plastiques dans le corps humain par inhalation.** Les particules de plastique en suspension dans l'air proviennent de textiles synthétiques et de l'air extérieur pollué (Yee et al. 2021).



**Figure 18. Entrée des particules plastiques dans le corps humain par ingestion.** Les particules de plastique peuvent interagir avec les protéines, les lipides, les glucides, les acides nucléiques, les ions et l'eau dans le corps humain, entraînant la formation de particules plastiques en couronne qui traversent l'épithélium intestinal (Yee et al. 2021).

#### a) L'inhalation

Récemment, la présence de microplastiques a été détectée dans les retombées atmosphériques (Prata 2018), même dans des zones éloignées (Zhang *et al.* 2019) ainsi qu'à des altitudes élevées (Allen *et al.* 2019). Ces microplastiques aéroportés peuvent être transportés sur de longues distances, touchant des zones reculées par le biais du transport atmosphérique (Allen *et al.* 2019), et cela en un temps relativement court (de quelques jours à quelques semaines) et à la fois dans la couche limite planétaire et dans la troposphère libre (Allen *et al.* 2022). Les différentes formes de microplastiques aéroportés étudiées incluent les retombées atmosphériques (particules/m<sup>2</sup>/jour), la poussière (microplastiques/g), la neige (microplastiques/L) et les microplastiques en suspension (particules/m<sup>3</sup>) (O'Brien *et al.* 2023). Les sources exactes de microplastiques en suspension dans l'air restent encore largement inconnues, bien que certaines particules plastiques puissent être éjectées de la mer dans l'atmosphère sous forme d'embruns par exemple grâce à l'éclatement de bulles et l'agitation des vagues sous l'effet de vents forts ou d'une mer agitée (Allen *et al.* 2020). Plus de 30 % des particules atmosphériques au-dessus des océans, également appelées "aérosols", sont constituées de plastiques (Ferrero *et al.* 2022). Ainsi, le transport du plastique crée un cycle sans fin, les océans ne représentant plus uniquement des réceptacles finaux pour les microplastiques, mais devenant également une source atmosphérique de ces éléments. Par conséquent, l'exposition humaine aux microplastiques en suspension par inhalation devient inévitable (Xie *et al.* 2022) (**Figure 17**). Les fibres de microplastiques, provenant de sources variées, dominent dans l'atmosphère (Kaya *et al.* 2018). Les textiles utilisés, notamment les textiles synthétiques, libèrent des particules plastiques et des produits chimiques, affectant ainsi la qualité de l'air à l'intérieur et à l'extérieur (Bhat *et al.* 2022), et entraînant des risques potentiels pour la santé humaine. Le tabagisme contribue également à l'inhalation de microplastiques (Lu *et al.* 2023). Les dépôts atmosphériques de microplastiques semblent également plus concentrés dans les grandes villes, comme le montre l'étude au centre de Londres, où les niveaux étaient 20 fois supérieurs à ceux d'un endroit présentant moins de pression anthropique (Wright *et al.* 2020b).

#### b) L'ingestion

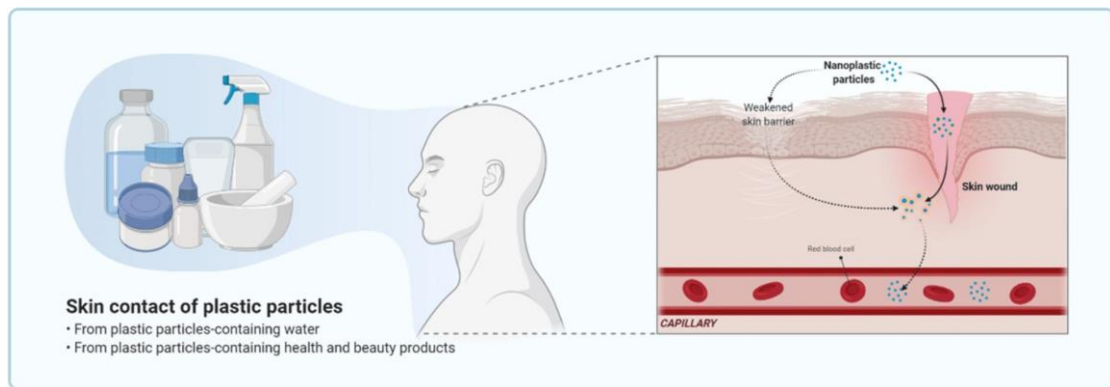
La population se retrouve exposée à la consommation de particules plastiques par l'ingestion d'aliments ou d'eau chargée en microplastiques et nanoplastiques (**Figure 18**). Cela constitue



une source potentielle d'exposition, soulevant des inquiétudes concernant la sécurité sanitaire mondiale. Concernant les mollusques, les parties molles qui sont ingérées par les consommateurs peuvent contenir des particules plastiques microscopiques. L'ampleur de l'ingestion annuelle estimée de microplastiques par la consommation de coquillages varie de 87 à 11 970 microplastiques par personne, en fonction du pays et du niveau de contamination des coquillages (Cho *et al.* 2019). Les résultats d'une analyse de 93 articles portant sur l'ingestion de plastique par les poissons marins sauvages, publiés depuis 1972, a révélé que parmi les 391 espèces de poissons commercialement étudiées, 262 (soit 67 %) avaient ingéré des particules de plastique (Markic *et al.* 2020). De plus, les poissons peuvent être contaminés après la pêche, au cours de leur stockage et de leur transport dans des contenants en plastique en polystyrène.

Toutefois, les organismes marins destinés à la consommation alimentaire, comme les fruits de mer, ne constituent pas la seule source de microplastiques (Mamun *et al.* 2023). Les produits alimentaires transformés peuvent également être contaminés par des microplastiques, provenant des emballages alimentaires, ce qui peut conduire à l'introduction de ces particules dans le corps humain lors de la consommation (Gaston & Tulve 2019). Des particules de plastique ont même été détectées dans des conserves de sardines, probablement en raison de la translocation de ces particules dans les tissus comestibles, d'une mauvaise éviscération ou encore d'une contamination provenant des installations de mise en conserve (Karami *et al.* 2018). Par ailleurs, la présence de microplastiques a été détectée dans les sels commerciaux de différents pays (Karami *et al.* 2017), dans l'eau du robinet ou même dans la bière (Kosuth *et al.* 2018), ainsi que dans des sachets de thé (en plastique) (Hernandez *et al.* 2019) (désormais interdits en France depuis la loi n° 2020-105 du 10 février 2020 relative à la lutte contre le gaspillage et à l'économie circulaire\*). En outre, la contamination de l'eau par des microplastiques accroît l'ingestion annuelle de ces particules de 90 000 unités via des sources en bouteille, comparativement à 4 000 unités dans le cas de l'eau du robinet (Cox *et al.* 2019). De nouvelles études ont également signalé la présence de microplastiques dans les fruits et légumes. Ces particules de plastique peuvent aussi être indirectement ingérées via des produits de soins personnels tels que le dentifrice et les gommages. Toutefois, le risque lié à l'ingestion de plastiques via la consommation d'aliments contaminés semble être relativement faible comparé à l'exposition par inhalation, par





**Figure 19. Entrée des particules plastiques dans le corps humain par contact cutané.** Bien que la membrane cutanée soit trop fine pour que ces particules de plastique la traversent, les nanoplastiques peuvent pénétrer directement ou indirectement à travers les plaies et les barrières cutanées affaiblies (Yee et al. 2021).

exemple lorsqu'il y a contact avec des fibres lors d'un repas via les dépôts de poussière à l'intérieur des habitations (Catarino *et al.* 2018). Selon une étude menée par Cox *et al.* (2019), le nombre de particules avalées par une personne varie de 39 000 à 52 000 en fonction de l'âge et du sexe. Lorsque l'inhalation est prise en compte, ces chiffres augmentent entre 74 000 et 121 000 particules.

a) Le contact cutané

Des particules plastiques peuvent être présentes dans les détergents et les produits de soins personnels. Cependant, cette voie d'exposition semble être moins préoccupante en raison de la taille des microplastiques et du fait que l'absorption de particules à travers la peau nécessite une pénétration à travers le *stratum corneum*, ce qui est limité aux particules de moins de 100 nm. Par conséquent, l'absorption à travers la peau semble peu probable (Revel *et al.* 2018).

Néanmoins, il a été avancé que les nanoplastiques inférieurs à 100 nm pourraient pénétrer la peau humaine (Sykes *et al.* 2014) (**Figure 19**). Les microbilles présentes dans les produits de consommation comme les exfoliants et les shampoings (désormais interdits en France depuis la loi n° 2020-105 du 10 février 2020 relative à la lutte contre le gaspillage et à l'économie circulaire\*) peuvent se fragmenter en nanoplastiques (Hernandez *et al.* 2017). Les nanoplastiques peuvent être plus nocifs pour l'environnement que les autres particules de plastique (Bhat *et al.* 2023).

Pour conclure sur cette partie, qui peut paraître à première vue excentrée par rapport au sujet de thèse mais permet néanmoins de donner des éléments de contexte sur l'impact environnemental mais aussi sanitaire des plastiques, il apparaît que les particules plastiques (micro et nano, et ce même si l'accent a été mis sur les microplastiques) sont donc de plus en plus répandus. La présence de divers microplastiques dans les selles humaines a été constatée, ce qui suggère une ingestion accidentelle provenant de sources variées (Schwabl *et al.* 2019). Une corrélation entre les microplastiques présents dans les selles et les maladies inflammatoires de l'intestin a été observée (Yan *et al.* 2022). Une étude récente a révélé des dommages mitochondriaux causés par les nanoplastiques dans les cellules hépatiques et pulmonaires humaines (Lin *et al.* 2022). Une autre étude a montré que les particules de microplastiques en polystyrène peuvent pénétrer dans la couche superficielle des poumons,



être absorbées par les cellules endothéliales, entraîner une inhibition de la prolifération cellulaire et induire des modifications morphologiques (Goodman *et al.* 2021). La présence de microplastiques dans le sang humain a également été détectée et quantifiée (Leslie *et al.* 2022). Ces microplastiques ont ainsi la capacité de s'accumuler dans le corps humain à tous les stades de l'existence (Mohamed Nor *et al.* 2021).

### III. Plastiques et environnement : interactions biotiques et abiotiques

#### A. Plastisphere

Le terme "plastisphere", désignant l'écosystème microbien qui se développe en surface des débris plastiques, a été utilisé pour la première fois dans une étude menée par (Zettler *et al.* 2013), et cela même si des premières preuves de colonisation de plastiques en milieu marin par des diatomées et des hydrozoaires avaient été observées au début des années 1970 (Carpenter & Smith 1972). Il est estimé que les biofilms de la plastisphere globale contiennent entre 1 000 et 15 000 tonnes de micro-organismes (Mincer *et al.* 2016). La plastisphere abrite divers micro-organismes tels que des bactéries, des archées, et des micro-eucaryotes dont des protistes et des champignons, mais également des virus (Wright *et al.* 2020a). Ces organismes colonisent la surface des plastiques et créent ainsi une nouvelle niche écologique avec une diversité de modes trophiques, i.e. producteurs primaires, prédateurs, symbiotes et décomposeurs (Amaral-Zettler *et al.* 2020). Les particules de microplastiques sont considérées comme des "points chauds" d'activités biogéochimiques liées au fonctionnement des communautés microbiennes. Des taux élevés de production d'oxygène (Bryant *et al.* 2016) et des émissions environ deux fois plus élevées de gaz à effet de serre de type « N<sub>2</sub>O » ont été quantifiées par comparaison à la colonne d'eau environnante (Su *et al.* 2022), et cela alors que la plastisphere représente moins de 0,2 % de la biomasse microbienne en haute mer (Mincer *et al.* 2019) et 1% des cellules microbiennes de la microcouche de surface de l'océan (1,5.10<sup>3</sup> à 1,1.10<sup>4</sup> tonnes métriques de biomasse carbonée) (Zhao *et al.* 2021).

Ainsi, les plastiques offrent plusieurs avantages pour les communautés microbiennes. Ils fournissent un substrat solide pour leur colonisation



(Amaral-Zettler *et al.* 2020; Zettler *et al.* 2013), offrent un accès aux ressources essentielles (nutriments) par la matière organique agrégée sur les plastiques, et permettent a minima aux premiers stades de colonisation de résister aux conditions environnementales défavorables, aux prédateurs, aux virus, etc. Cependant, ces avantages peuvent se transformer en défis lorsque la concurrence pour les ressources s'intensifie et que les conditions se détériorent en raison de l'épuisement des ressources et de l'accumulation de déchets métaboliques. Cette situation conduit à une hétérogénéité spatiale des biofilms et à la création de microniches optimales, sous-optimales ou défavorables pour chaque micro-organisme au sein de la structure en trois dimensions du biofilm (Dang & Lovell 2015).

L'établissement de la plastisphère implique généralement le passage des micro-organismes d'un mode de vie mobile à un état sessile (Yu *et al.* 2023). Le cycle de vie de la plastisphère aquatique peut être divisé en trois étapes distinctes : la colonisation précoce, la succession communautaire et l'équilibre dynamique (Amaral-Zettler *et al.* 2020). Les impacts des substrats et des conditions environnementales peuvent donc varier à chaque stade de cette colonisation, entraînant des changements de communauté en raison de pressions sélectives continues, sans parler d'une forme de stochasticité complexifiant la compréhension de la structuration des communautés microbiennes.

Lors de la phase initiale de colonisation, les micro-organismes pionniers forment des assemblages microbiens et recouvrent au maximum les surfaces plastiques. Ces organismes généralistes prospèrent sans compétition, pouvant se lier aux particules plastiques ou s'en détacher pour reprendre leur mode de vie mobile. Ce phénomène d'attachement et de détachement, observé dans les biofilms et les particules organiques, libère des cellules microbiennes qui reprennent leur croissance planctonique jusqu'à rencontrer une autre surface appropriée (Ghiglione *et al.* 2007). Les premiers colonisateurs de la plastisphère incluent les diatomées (comme les diatomées pennées, pédonculées et les chaînes de diatomées centriques), les bactéries (comme les cyanobactéries, les gammaprotéobactéries, telles que les Oceanospirillaceae, et les alphaprotéobactéries, telles qu'*Erythrobacter* et *Roseobacter*, et les algues vertes (Amaral-Zettler *et al.* 2020; Bryant *et al.* 2016; Dang & Lovell 2000; De Tender *et al.* 2015; Kirstein *et al.* 2019; Pollet *et al.* 2018; Zettler *et al.* 2013). Bien que le rôle dominant des diatomées diminue avec la maturité de la plastisphère, elles restent



des membres permanents de celle-ci (Amaral-Zettler *et al.* 2020). Le développement de la plastisphère implique l'agrégation et la fixation de bactéries, d'organismes unicellulaires eucaryotes, de larves, de spores procaryotes ou eucaryotes et de matière organique dissoute (Mincer *et al.* 2016). Ce processus est rendu possible par les pili, les protéines adhésives et la production de substances polymères extracellulaires complexes (EPS), facilitant l'adhésion aux surfaces et favorisant les interactions cellule-cellule (Dussud *et al.* 2018). Lors des étapes d'agrégation et de fixation, des composants de matrice de biofilm sont produits, contribuant à la création de micro-niches à la surface des plastiques dû à la rugosité et à la présence de fractures facilitant l'implantation et l'intégration continue d'organismes cellulaires au fil de la maturation (Yu *et al.* 2023). Le "quorum sensing" joue également un rôle majeur dans la formation des biofilms bactériens mais également fongiques, favorisant la fixation de davantage de bactéries et de champignons, conduisant à la maturité du biofilm (Zhai *et al.* 2023).

L'apparition du biofilm s'accompagne d'une importante diminution de l'hydrophobie et de la flottabilité du plastique (Lobelle & Cunliffe 2011). Les polymères plastiques, étant caractérisés par diverses densités\*, occupent différentes couches au sein des écosystèmes aquatiques où les conditions sont également hétérogènes. Les plastiques flottant en surface sont confrontés à des perturbations lumineuses et hydrodynamiques plus intenses, ce qui peut influencer davantage la succession microbienne de la plastisphère (Zhao *et al.* 2018). L'encrassement par les organismes marins entraîne une nette diminution de la quantité de lumière UV qui parvient au plastique (O'Brine & Thompson 2010). Sous la surface de l'eau, alors que Wallbank *et al.* (2022) ont souligné qu'une baisse de l'intensité lumineuse avec la profondeur n'avait pas d'impact significatif sur la composition de la communauté bactérienne ou fongique associée aux plastiques, (Tu *et al.* 2020) ont démontré que la quantité totale de biofilms diminue avec la profondeur de l'eau. Néanmoins, la présence de lumière pourrait être bénéfique dans la colonisation et la photodégradation des plastiques (Sebastian *et al.* 2023; Wright *et al.* 2021a). Une étude récente suggère par ailleurs que 7 à 22 % de tous les débris plastiques rejetés en mer pourraient avoir subi une dégradation due au rayonnement solaire UV, selon un modèle d'accumulation des plastiques flottants (Delre *et al.* 2023).





Ainsi, les microplastiques, omniprésents dans les écosystèmes aquatiques, ont la capacité d'être transportés sur de longues distances, aussi bien horizontalement que verticalement à travers la colonne d'eau. La colonisation des microplastiques par des communautés microbiennes pouvant inclure des algues nuisibles, des espèces envahissantes et des organismes pathogènes (Arias-Andres *et al.* 2018; Keswani *et al.* 2016) jouent un rôle de vecteurs favorisant la sélection et la propagation de ces organismes (Koh *et al.* 2023). Par exemple, dans les plastisphères côtières, une proportion significative d'ASV (Amplicon Sequence Variant) uniques (46,3 % pour les eucaryotes et 65,8 % pour les procaryotes) n'a pas été retrouvée dans les sédiments ou l'eau environnants. Cela suggère que les débris plastiques sur les sites côtiers d'échantillonnage proviennent probablement d'autres habitats et que les communautés de la plastisphère ont pu intégrer ces organismes lors de leur transport (Koh *et al.* 2023).

## 1. Composante procaryote

Depuis la première étude descriptive de la plastisphère, réalisée par pyroséquençage 454, ciblant les régions hypervariables V4-V6 du gène codant la petite sous-unité de l'ARN ribosomique (Zettler *et al.* 2013), de nombreux travaux ont utilisé cette approche de metabarcoding, majoritairement par séquençage avec la technologie Illumina HiSeq ou MiSeq, afin de mettre en évidence le potentiel de colonisation des communautés procaryotes associées aux plastiques en milieu marin. Ces travaux ont permis de mettre en évidence une colonisation rapide, relativement structurée et dynamique lorsque des matériaux plastiques sont immergés en milieu marin. Plusieurs études ont démontré une colonisation des matrices plastiques initiée après seulement quelques minutes d'immersion (Harrison *et al.* 2014; Latva *et al.* 2022).

Les micro-organismes pionniers trouvent initialement de l'énergie des substrats carbonés dans les oligomères produits lors de la dégradation des plastiques ou des additifs lixiviés (Ningthoujam *et al.* 2023; Wright *et al.* 2020a). Ces sources de carbone et d'énergie s'épuisant rapidement, d'autres micro-organismes, également considérés comme pionniers, s'implantent, notamment des hétérotrophes utilisant i) de la matière organique du milieu marin, agrégée sur les matrices plastiques pour former une "éco-couronne" (Wright *et al.* 2020a) ou ii) des photosynthétats générés par des micro-organismes photosynthétiques pionniers, tels que les cyanobactéries (Zettler *et al.* 2013). Cette colonisation, caractérisée de



relativement structurée car soumise à une forme de stochasticité comme toute surface immergée en milieu marin, évolue vers un biofilm qui gagne en complexité, comprenant des communautés complexes et en interaction, avec la présence d'opportunistes, de mutualistes, de prédateurs et parasites, de compétiteurs, etc. (Wright *et al.* 2020a).

Les taxons les plus fréquemment identifiés sur plastiques immergés dans le milieu marin appartiennent aux phylums Proteobacteria, Cyanobacteria et Bacteroidia (De Tender *et al.* 2017). Cette communauté pionnière est ensuite rapidement remplacée par des membres des Alphaproteobacteria et Flavobacteria (Pollet *et al.* 2018)

Les échantillons de plastiques ont montré une abondance et un schéma de distribution différents pour les bactéries photosynthétiques et hétérotrophes par rapport aux communautés présentes dans l'eau de mer (Zettler *et al.* 2013), indiquant l'enrichissement de micro-organismes avec des voies métaboliques spécifiques. D'autres études ont confirmé ces conclusions en démontrant que les bactéries associées aux débris plastiques marins occupent des niches écologiques distinctes par rapport aux communautés libres et à celles associées aux particules organiques, mettant ainsi en évidence le concept de partitionnement de niches au niveau la plastisphère (Dussud *et al.* 2018).

Des espèces pathogènes ont également été identifiées parmi les colonisateurs bactériens. Les biofilms plastiques marins deviennent de plus en plus associés à des bactéries virulentes au fil du temps (Lear *et al.* 2022). Des agents pathogènes putatifs peuvent être trouvés enrichis sélectivement sur les microplastiques tels que des sérotypes d'*E. coli*, *Pseudomonas* et *Arcobacter* (Metcalf *et al.* 2022). Néanmoins, il est essentiel d'effectuer des tests de gènes de virulence pour évaluer leur potentiel pathogénicité, car ils semblent plus fréquents dans les échantillons d'eau que dans ceux de plastique (Kirstein *et al.* 2016; Silva *et al.* 2019; Wright *et al.* 2020a). Le genre *Vibrio* affilié aux Gammaproteobacteria regroupe de nombreuses espèces retrouvées dans différents habitats marins côtiers, océaniques et abyssaux ainsi qu'en milieu lacustre (Hasan *et al.* 2015; Michotey *et al.* 2020). Les *Vibrio* non-cholériques tels que *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. campbellii* et *V. vulnificus* représentent des pathovars affectant à la fois les stocks de bivalves et de poissons d'élevage et sauvages, et provoquant des maladies alimentaires graves chez les humains par le biais de la



consommation de produits de la mer, ainsi que des affections et des décès par infection de plaies (Baker-Austin *et al.* 2018). Plusieurs études ont mis en évidence des quantités élevées de *Vibrio* sur les microplastiques marins, notamment dans l'océan Atlantique Nord ou dans la mer du Nord/Baltique (Amaral-Zettler *et al.* 2020; De Tender *et al.* 2015; Kirstein *et al.* 2016; Sun *et al.* 2020; Zettler *et al.* 2013), permettant de les caractériser comme des “hitchhikers” ou “auto-stoppeurs” indésirables sur les particules de plastique, facilitant leur dissémination à grande échelle dans le milieu marin (Kirstein *et al.* 2016). Les *Vibrio* spp. ont tendance à être parmi les premiers colonisateurs et à rapidement dominer la plastisphère par rapport aux substrats naturels (Frère *et al.* 2018; Kesy *et al.* 2019). Dans une étude, les *Vibrios* spp. ont colonisé 13% des microplastiques marins testés (Kirstein *et al.* 2016). Récemment, des ASVs affiliés à des *Vibrio* potentiellement pathogènes ont été mis en évidence en fortes abondances au niveau de sites marins côtiers avec 18 ASVs regroupés avec des OTUs (Operational Taxonomic Unit) / ASVs représentatives d'espèces potentiellement pathogènes telles que *V. vulnificus*, *V. tubiashii*, *V. ichthyoenteri*, *V. parahaemolyticus* et *V. rotiferianus* (Theirylnck *et al.* 2023). Une approche de métagénomique basée sur l'assemblage de MAG (Métagenome-Assembled Genomes) ciblant les *Vibrio* associés à des déchets plastiques marins a permis de révéler la présence de nombreux gènes de virulence proches de ceux retrouvés dans le génome de souches pathogènes cholériques et non-cholériques (Mincer *et al.* 2023). Les plastiques pourraient ainsi servir de vecteurs potentiels pour des agents pathogènes, mais également des bactéries porteuses de gènes de résistance aux antibiotiques (Rasool *et al.* 2021; Stenger *et al.* 2021), constituant une menace pour la santé et la sécurité sanitaire. De plus, les bactéries liées aux microplastiques montrent une tendance accrue au transfert de plasmides par rapport à leurs homologues libres ou présentes dans des agrégats naturels (Arias-Andres *et al.* 2018). Ce transfert horizontal de gènes dans cette nouvelle niche écologique pourrait avoir des répercussions importantes sur les communautés microbiennes aquatiques à l'échelle mondiale et potentiellement contribuer à la dissémination de la résistance aux antibiotiques, constituant ainsi une nouvelle préoccupation pour la santé humaine (Arias-Andres *et al.* 2018). En somme, les débris plastiques abritent des ensembles microbiens spécifiques et ont le potentiel de disséminer des bactéries dans de nouveaux environnements, entraînant des changements dans la structure des communautés locales. Enfin, les descriptions actuelles de la plastisphère se sont principalement concentrées sur les écosystèmes épipelagiques. Actuellement, peut-être en



raison des défis pratiques liés à l'échantillonnage ou à la collecte de débris plastiques en eaux profondes, seules quelques études ont caractérisé la plastisphère des grands fonds marins (Kelly *et al.* 2022; Krause *et al.* 2020; Vaksmaa *et al.* 2022; Woodall *et al.* 2018) alors que ces derniers pourraient être des réservoirs de diversité microbienne non-triviaux. Néanmoins, la capacité des communautés bactériennes épipelagiques à se maintenir sur les matrices plastiques au fur et à mesure de la sédimentation, le potentiel de colonisation des micro-organismes en milieu marin profond ainsi leurs rôles écologiques, tant en termes de dispersion que de dégradation, demeurent largement méconnus. De façon intuitive, l'intensité lumineuse étant négativement corrélée à la profondeur, les bactéries photoautotrophes, telles que les cyanobactéries, qui dominent les communautés de plastisphère vivant dans l'eau de mer de surface, tendraient à être remplacées par des Bacteroidota et des Protéobactéries (Jacquin *et al.* 2019). Néanmoins, des ASVs affiliés au Cyanobacteria ont été détectés comme faisant partie de la composante majoritaire sur PS et PU immergés ~420 jours à ~1800m de profondeur (Kelly *et al.* 2022), suggérant i) une présence liée aux capacités mixotrophiques de certaines cyanobactéries ou ii) des biais liés à la détection d'ADN extrait de cellules inactives.

## 2. Composante micro-eucaryote

Dans le contexte des recherches portant sur la plastisphère, les études se sont principalement focalisées sur l'amplification des régions hypervariables du gène de l'ARNr 16S. Les études centrées sur la caractérisation de la diversité des micro-eucaryotes, majoritairement par des approches de metabarcoding ciblant l'ADNr 18S, restent à ce jour limitées.

Diverses études indiquent que le groupe Ochrophyta, constitué principalement d'organismes photosynthétiques comme les diatomées, est dominant sur plastiques exposés à la lumière. Les diatomées ont été observées en tant que pionnières prolifiques sur les déchets plastiques marins, en particulier sur ceux exposés à la lumière, et parfois même dominants sur ces plastiques (Amaral-Zettler *et al.* 2020; Kettner *et al.* 2019a; Latva *et al.* 2022). La corrélation entre la quantité de diatomées et la concentration de plastiques pourrait s'expliquer par le fait que les forces hydrodynamiques, qui rassemblent les débris plastiques le long des côtes et dans les gyres, ont également tendance à regrouper les organismes planctoniques dérivants (Carson *et al.* 2013). Cependant, représentant moins de 1 % de la communauté

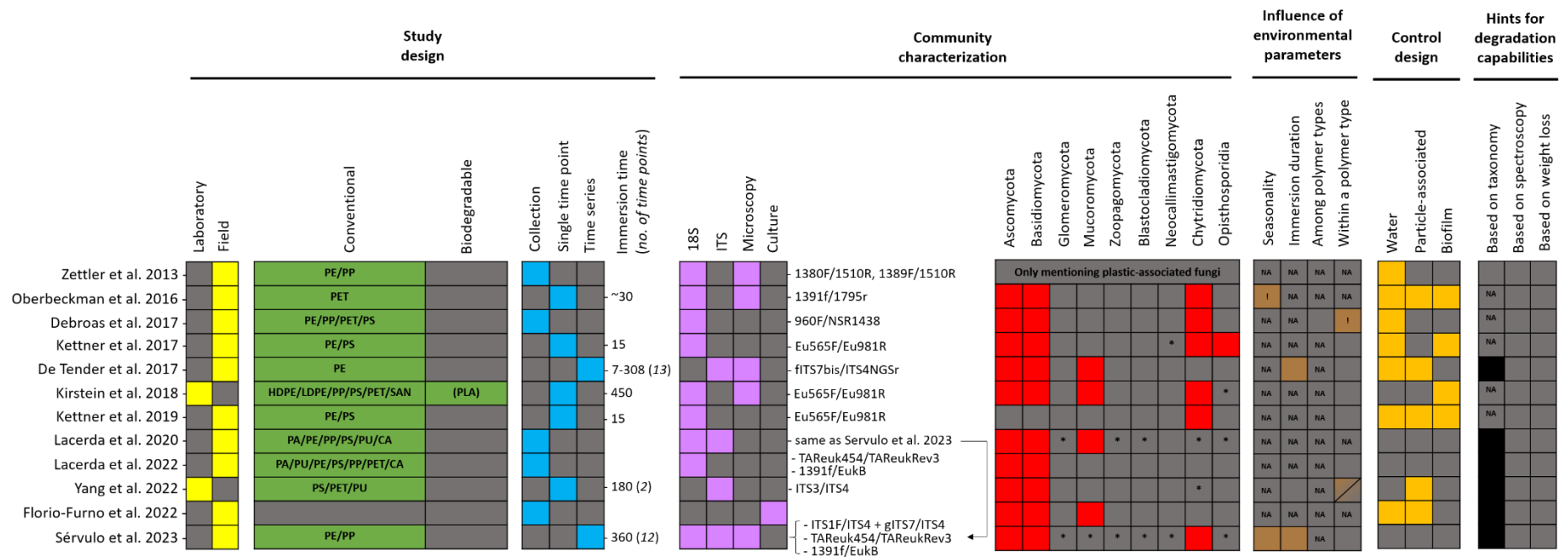




globale d'eucaryotes, ces communautés sont progressivement remplacées au fil du temps d'immersion des plastiques (Amaral-Zettler *et al.* 2020), indiquant une dynamique de succession microbienne en fonction de la durée d'immersion.

En conséquence, les diatomées pourraient favoriser l'arrivée d'espèces hétérotrophes et de larves d'organismes macroscopiques, source de bio-encrassement (Ma *et al.* 2023). Par exemple, plusieurs organismes classés dans le règne des Métazoaires/Animalia, tels que les nématodes, les rotifères, ou les annélides, semblent principalement se lier aux microplastiques pré-colonisés (succession communautaire) sous forme d'œufs, de larves et de jeunes individus. Néanmoins, leur présence significative pourrait également être liée à une simple adsorption de l'ADN environnemental (ADNe) sur ces particules (Kettner *et al.* 2019a) mais également au nombre élevé de copies du gène de l'ARNr 18S dans ces organismes multicellulaires (Gong & Marchetti 2019; Latva *et al.* 2022). Il a été observé, à une plus faible fréquence, des organismes du groupe SAR (Stramenopiles, Alveolata, Rhizaria), notamment les dinoflagellés. Certains d'entre eux sont des espèces considérées comme responsables de la prolifération d'algues nuisibles (Latva *et al.* 2022). D'autres taxons comme les Chlorophyta, ont également été identifiés sur les microplastiques (Kettner *et al.* 2019a).

Parmi ces études sur les micro-eucaryotes, plusieurs se concentrent sur la diversité des communautés fongiques par approche de metabarcoding en ciblant les régions hypervariables du gène de l'ARNr 18S ou du marqueur ITS1 et/ou ITS2. Cette disparité d'attention entre les procaryotes et les micro-eucaryotes, et notamment les champignons, est remarquable, malgré la mise en évidence de leur diversité et leurs rôles non triviaux dans les environnements marins (Burgaud *et al.* 2022). Les champignons sont des organismes chimio-hétérotrophes omniprésents, répandus dans les environnements terrestres et aquatiques, avec des modes de vie très divers. Ces organismes peuvent être des saprotrophes (utilisateurs de matières mortes en décomposition), des organismes stricts ou opportunistes (décomposeurs, mutualistes ou pathogènes). Morphologiquement, les champignons peuvent être unicellulaires, filamenteux ou dimorphes (de Paz *et al.* 2023). Les champignons ont été étudiés de manière plus approfondie dans les environnements terrestres par rapport aux environnements aquatiques, en particulier dans les environnements marins (Amend *et al.* 2019; Zeghal *et al.* 2021). Une synthèse



**Figure 20. Revue de littérature de 12 études analysant la Plastisphère sur les débris plastiques marins en mettant l'accent sur les communautés fongiques (mise à jour à partir de Wright et al. 2020).**

La première colonne indique si l'étude a été menée en laboratoire ou sur le terrain (jaune), les différents types de plastiques, conventionnels ou biodégradables (vert), et si les plastiques ont été collectés naturellement dans la mer (collecte) ou introduits par les chercheurs et collectés soit à un seul point dans le temps, soit à une série de points dans le temps (bleu). Les chiffres indiquent les premiers et derniers jours d'incubation, les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de points inclus dans la série temporelle. La caractérisation de la communauté fongique indique si la plastisphère a été analysée par séquençage à haut débit de l'ARNr 18S ou ITS (ainsi que les amorces utilisées) ou par une approche basée sur la culture, et si la microscopie a été utilisée pour visualiser le biofilm (violet) et les différents phyla fongiques détectés (rouge), l'astérisque (\*) indique les détections de faible niveau. L'influence des paramètres environnementaux indique si la saisonnalité et la durée d'immersion sont des variables significatives ayant un impact sur les communautés fongiques, et si des différences ont été observées entre les polymères plastiques (différences entre les polymères conventionnels et biodégradables) et/ou au sein d'un type de polymère (différences entre les différents polymères d'une catégorie similaire, conventionnels ou biodégradables) (marron). NA signifie "Non analysé". '!' signifie qu'une influence a été observée.

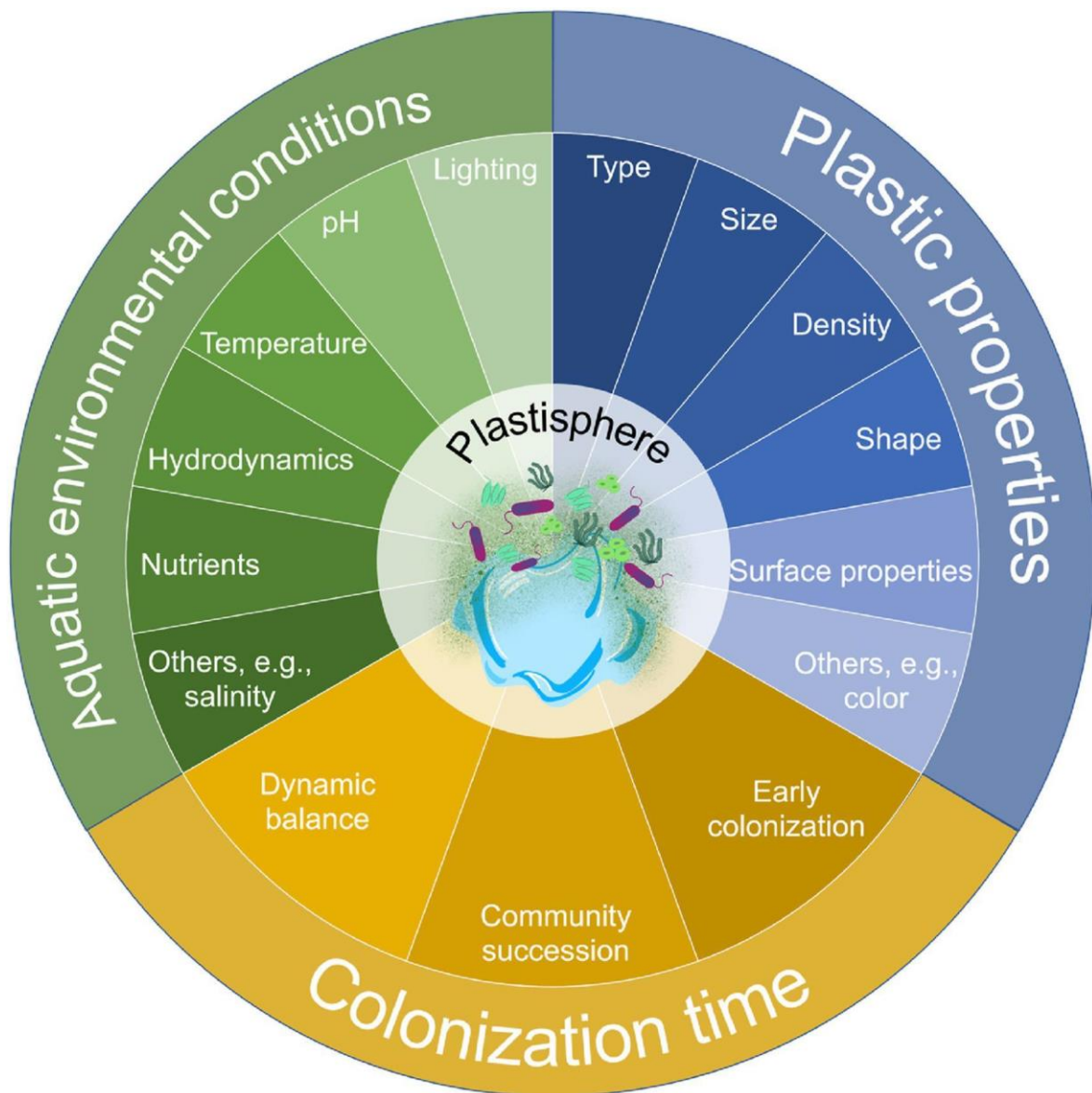
bibliographique a donc été réalisée afin de collecter et comparer les articles scientifiques se focalisant sur les communautés fongiques associées aux plastiques marins (**Figure 20**).

Notre méta-analyse révèle que l'étude des champignons associés aux plastiques, principalement menée par une approche de metabarcoding, constitue un domaine émergent, comme en témoignent 5 des 12 études pertinentes publiées entre 2020 et 2023. Lacerda *et al.* (2020) ont analysé les communautés fongiques sur des plastiques collectés dans l'Atlantique Sud-Ouest et la péninsule Antarctique en comparant trois gènes : ITS2, ARNr 18S V4 et ARNr 18S V9. L'étude a mis en lumière que, lors de l'utilisation des amorces 18S V4, seulement 2,2 % (dans l'Atlantique) et 4,3 % (en Antarctique) des "reads" pouvaient être assignés. Les amorces ciblant la région 18S V9 ont montré un taux similaire d'assignation (2,9 % et 5,6 % respectivement). En revanche, les amorces visant la région ITS2 se sont avérées beaucoup plus efficaces, permettant d'assigner respectivement 60 % (dans l'Atlantique) et 80 % (en Antarctique) des "reads".

Pour les études incluant un contrôle "eau de mer", il apparaît évident que les communautés fongiques associées aux plastiques sont significativement différentes des communautés fongiques présentes dans l'eau de mer environnante, en cohérence avec les études portant sur les communautés procaryotes. De manière intéressante, une étude spécifique s'est penchée sur les communautés fongiques peuplant les sédiments marins associés aux plastiques, en utilisant une approche culture-dépendante (Florio Furno *et al.* 2022). Cette enquête a produit des résultats cohérents avec des recherches antérieures, démontrant des disparités dans la richesse spécifique entre les échantillons de plastique et ceux de sédiment ou d'eau. Parmi les articles de recherche sélectionnés qui incluaient un matériau de contrôle inerte tel que le bois ou le verre, trois études (Kettner *et al.* 2017, 2019; Kirstein *et al.* 2018) ont signalé des distinctions notables entre les matériaux de contrôle et les substrats en plastique. Cependant, dans une étude examinant spécifiquement les communautés fongiques colonisant le PET, aucune différence significative n'a été observée par rapport à celles colonisant les substrats en verre (Oberbeckmann *et al.* 2016). Ces constatations suggèrent que les emplacements géographiques et les variables environnementales inhérentes peuvent exercer une influence plus marquée sur la colonisation fongique que le type de plastique ou de matériau en question.



La plupart des études publiées indiquent que la composition polymérique des plastiques n'influence pas de manière significative la richesse des Unités Taxonomiques Opérationnelles (OTU) ou la composition des communautés (ASV) (Kettner *et al.* 2017, 2019a; Lacerda *et al.* 2020, 2022; Sérvulo *et al.* 2023). Cependant, une étude a détecté des différences dans la composition des communautés, notamment en ce qui concerne les communautés fongiques sur le PS et le PET, qui contrastaient avec celles sur PU (Yang *et al.* 2022). Une étude récente a mis en évidence l'impact significatif de la durée d'immersion sur la colonisation fongique (De Tender *et al.* 2017). Cependant, ces résultats divergent de ceux de Sérvulo *et al.* (2023) qui ont rapporté des communautés stables sur une période d'immersion d'un an. En ce qui concerne la diversité taxonomique, les Ascomycota dominent les communautés fongiques associées aux plastiques, dans lesquelles on trouve également des Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota, Mucoromycota, Zoopagomycota et Cryptomycota (De Tender *et al.* 2017; Lacerda *et al.* 2020, 2022; Zeghal *et al.* 2021; Sérvulo *et al.* 2023), ce qui concorde avec les tendances générales de la diversité des champignons marins pélagiques (Jones *et al.* 2019). Dans des biofilms sur des bouteilles en PET immergées en mer du Nord pendant environ 6 semaines, des champignons ont été détectés (Oberbeckmann *et al.* 2016), incluant des membres des Ascomycota, Basidiomycota et Chytridiomycota. Kettner *et al.* (2017) ont étudié les communautés fongiques attachées au PE et au PS de la rivière Warnow à la mer Baltique sur lesquels les Chytridiomycota, Cryptomycota et Ascomycota dominaient également la majorité des "reads". Dans les débris plastiques de la mer du Nord et de la mer Baltique, les principaux groupes fongiques étaient les Ascomycota et Basidiomycota (De Tender *et al.* 2017). Dans le détroit de Jeju, en Corée, les champignons représentant le groupe parasite de la plastisphère le plus dominant, étaient composés d'Ascomycota, de Basidiomycota et de Chytridiomycota (Lee & Park 2022). Des filaments et des spores fongiques étaient également présents sur les biofilms microplastiques formés dans les sédiments du système estuarien de la baie de Vitória, au Brésil (Baptista Neto *et al.* 2019). Lacerda *et al.* (2020) ont étudié la diversité fongique associée aux plastiques dans les eaux de surface de l'ouest de l'Atlantique Sud et de la péninsule antarctique en étudiant trois gènes marqueurs moléculaires différents pour l'identification fongique : ITS2 (*internal transcribed spacer*), les régions variables V4 et V9 de la séquence du gène de l'ARNr 18S. Ils ont signalé des taxons fongiques, tels que Aphelidomycota, Zoopagomycota, Mucoromycota et Blastocladiomycota, qui n'avaient pas été détectés auparavant comme colonisateurs de



**Figure 21.** Les facteurs d'impact sur le développement de la plastisphère aquatique. L'impact combiné a été classé en trois ensembles : propriétés du plastique, conditions du milieu aquatique et durée de colonisation. Les facteurs d'impact détaillés sont illustrés dans chaque catégorie (Yu et al. 2023).

plastiques dans l'environnement marin. Globalement, la majorité des communautés fongiques qui dominent les écosystèmes marins appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Cladosporium* et *Fusarium* du phylum Ascomycota. De plus, les Chytridiomycota associés aux plastiques montrent une abondance plus élevée en automne et en hiver (Sérvulo *et al.* 2023) ou à des latitudes plus élevées (Kettner *et al.* 2017; Kirstein *et al.* 2018). Ces constatations étayent l'idée que les champignons dans les environnements marins polaires donnent naissance à des communautés spécifiques à l'habitat, apparemment influencées par la prévalence des Chytridiomycota (Burgaud *et al.* 2022; Hassett & Gradinger 2016; Hassett *et al.* 2017).

En termes de risque de transport de champignons pathogènes, une étude récente a révélé la présence de pathogènes fongiques putatifs au sein de la plastisphère, tels que *Cladosporium* et *Rhodotorula* sur des débris de plastique dans l'eau douce, et *Candida* et *Cladosporium* dans les biofilms sur nylon-6 (PA) et polyéthylène linéaire basse densité (LLDPE) dans le milieu marin (Gkoutselis *et al.* 2022). Néanmoins, il est important de noter que ces études n'ont réalisé qu'une assignation à l'échelle du genre et qu'il est convenit de faire preuve d'une certaine prudence quant aux interprétations sur leur réel caractère pathogène. Ces résultats révèlent des tendances émergentes et des schémas de distribution des champignons associés aux plastiques. Cependant, il est crucial d'interpréter ces premières observations avec prudence en raison de la variété des formats de plastiques (plaques, feuilles, granulés, etc.) utilisés dans les études examinées, des variations potentielles dues à la présence ou non d'additifs dans les matrices plastiques, des conditions environnementales distinctes et des différences de durée d'immersion. Ces limitations collectives soulèvent des questions importantes concernant une compréhension complète de la colonisation fongique des plastiques. L'étude des champignons associés aux plastiques est encore compliquée par les interactions avec les communautés bactériennes et protistes, ainsi que par l'influence de processus stochastiques au cours des premières étapes de colonisation. Cela souligne la nécessité de mener davantage de recherches normalisées pour obtenir des informations supplémentaires sur la question de savoir si les plastiques constituent véritablement un habitat unique pour les champignons, étendant ainsi le concept de partition des niches sur les les plastiques, concept déjà mis en évidence pour les bactéries (Odobel *et al.* 2021), au règne fongique.





### 3. Influence de différents facteurs

Le développement de la plastisphère peut être modulé par une combinaison de facteurs, comprenant les propriétés des substrats plastiques, les conditions environnementales et la durée de la colonisation (Yu *et al.* 2023) (**Figure 21**). Les aspects environnementaux incluent les facteurs physico-chimiques (la température, la salinité, la profondeur/pression, le pH, l'oxygène dissous et la lumière), la disponibilité en nutriments (e.g. le carbone organique/inorganique, l'ammonium, le nitrate, le nitrite et le phosphore) pour la croissance microbienne, les polluants (e.g. les métaux toxiques, antibiotiques et polluants organiques persistants) et les facteurs biotiques (principalement les algues et métazoaires). Des interactions complexes existent entre les organismes de la plastisphère. À titre d'exemple, les réseaux bactériens qui se sont développés sur des substrats artificiels, tels que le PVC, se sont révélés plus complexes que ceux présents sur des substrats naturels (Miao *et al.* 2021a), ce qui suggère que les communautés bactériennes établies sur des substrats artificiels présentent une plus grande stabilité et une meilleure résistance aux perturbations extérieures. Une autre recherche menée par (Pollet *et al.* 2018) a corroboré ces observations en se penchant sur les interactions entre différentes espèces au sein des biofilms marins naturels. Leurs résultats indiquent une tendance vers des relations de symbiose plutôt que de compétition en raison de la forte cohésion entre les diverses espèces bactériennes, ce qui se traduit par des assemblages microbiens stables. De plus, l'analyse des profils métaboliques fonctionnels a révélé que les communautés bactériennes sur les substrats artificiels montraient une capacité accrue à métaboliser les sources d'azote et de carbone par rapport à celles évoluant sur les substrats naturels. Ces résultats mettent en lumière la possibilité que les substrats artificiels puissent servir de niches écologiques pour la colonisation microbienne, avec le potentiel de modifier les compositions, les interactions et les fonctions microbiennes (Miao *et al.* 2021a).

#### a) Influence du plastique sur les communautés microbiennes

La diversité microbienne de la plastisphère marine diffère de celles d'autres substrats (Oberbeckmann *et al.* 2018; Zettler *et al.* 2013) tels que le bois, le verre ou le métal (Kirstein *et al.* 2019) ainsi que celles des eaux environnantes ;(Oberbeckmann *et al.* 2018; Zettler *et al.*



2013) ; Bryant *et al.* 2016; Debroas *et al.* 2017; Wright *et al.* 2020a; Zettler *et al.* 2013). Dans les écosystèmes de la rivière Warnow et de la mer Baltique, les communautés fongiques liées aux plastiques PE et PS présentaient moins de diversité que celles des écosystèmes aquatiques ambiants (eau et bois) (Kettner *et al.* 2017). Une tendance similaire a également été observée pour d'autres organismes eucaryotes sur les mêmes microplastiques (Kettner *et al.* 2019a). Cependant, les résultats des études sur les interactions entre les plastiques et les micro-organismes ont généré des conclusions contradictoires concernant la composition et la structure des communautés microbiennes qui se forment sur les surfaces plastiques. Certaines recherches antérieures suggèrent que les communautés bactériennes présentent une moindre diversité sur les plastiques (par exemple, PE et PP) par rapport aux environnements marins naturels (Oberbeckmann *et al.* 2018; Zettler *et al.* 2013). Cependant, d'autres études ont montré des résultats opposés (Bryant *et al.* 2016; De Tender *et al.* 2015, 2017; Debroas *et al.* 2017a; Dussud *et al.* 2018). Une étude sur les biofilms microplastiques dans la rade de Brest, a révélé une diversité et une richesse en espèces plus élevées par rapport aux bactéries libres et attachées aux particules (Frère *et al.* 2018). Ces disparités peuvent être attribuées à la variété des conditions expérimentales qui ont donné lieu à des modèles différents de composition et de structure des communautés microbiennes dans les études précédentes. De plus, dans une expérience d'exposition à long terme du PE dans deux environnements différents, portuaire et offshore, De Tender *et al.* (2017) ont montré une différence significative uniquement dans l'environnement portuaire, où les forces de cisaillement et de courant sont moins prononcées. Ces résultats suggèrent que la formation de biofilm est fortement entravée dans l'environnement naturel où les débris plastiques s'accumulent. Cependant, ces observations indiquent clairement que les biofilms microbiens sur les microplastiques se distinguent significativement en termes de composition de ceux présents dans l'eau environnante et sur les surfaces naturelles.

#### b) Impact du polymère et du type de plastique

L'hétérogénéité entre les différents types de polymères a également un impact sur le développement des communautés de biofilms. La libération d'additifs plastiques à partir de divers types de plastiques, également appelés "lixiviats" peut également influencer la biodiversité et la structure de la plastisphère (Amaral-Zettler *et al.* 2020). Des différences de colonisation entre différents types de plastiques ont été observées dans diverses études.



Ainsi, une étude a révélé que les communautés bactériennes présentes dans les biofilms sur les substrats de PS affichaient une diversité nettement plus élevée que celles se trouvant sur PE ou PP (Frère *et al.* 2018). Des variations similaires ont été rapportées entre les communautés bactériennes du PS et du PP, du PE et du PET (Amaral-Zettler *et al.* 2015) et même entre des microplastiques de PE de différentes couleurs (Wen *et al.* 2020). La couleur du plastique affecterait le photovieillissement du plastique (Zhao *et al.* 2022) et représenterait un déterminant important de la structure de la communauté microbienne des plastisphères et de la diversité fonctionnelle.

Cependant, d'autres études n'ont relevé aucune différence de biofilms entre les types de plastiques, par exemple entre PE et PS (Oberbeckmann *et al.* 2018; Zhao *et al.* 2022) ou entre PE et PP (Miao *et al.* 2019; Sérvulo *et al.* 2023) ou entre autres polymères plastiques (PET, HDPE, PVC, LDPE, PP et PS) (Dudek *et al.* 2020). En ce qui concerne les différents types de plastiques, les micro-organismes présentent une plus grande affinité pour les plastiques biodégradables comparés aux plastiques non biodégradables (Laffet *et al.* 2023; Peng *et al.* 2022a). Une comparaison des modèles de colonisation sur différentes surfaces suggère que les propriétés physico-chimiques de la surface peuvent influencer la succession précoce et la composition des communautés bactériennes (Dang & Lovell 2000). Une étude a montré que les communautés microbiennes des biofilms biodégradables PLA différaient significativement de celles de sept autres polymères plastiques traditionnels non dégradables (PET, PS, etc.) (Kirstein *et al.* 2018). Une autre étude a également observé une différence dans la composition bactérienne de la plastisphère entre plastiques biodégradables et non biodégradables (Yang *et al.* 2023a).

De plus, la rugosité, l'hydrophobicité et l'âge des microplastiques constituent les paramètres les plus importants contrôlant les propriétés de surface des microplastiques mais aussi la colonisation par chimiotaxie et pourraient clairement influencer la structure de la communauté microbienne de la plastisphère (Yang *et al.* 2020), en particulier, les colonisateurs primaires. Fait intéressant, les différences de composition microbienne entre les polymères sont généralement causées par des taxons rares alors que les groupes microbiens abondants restent largement stables (Kirstein *et al.* 2018). Une étude suggère que, dans un même système, le type de polymère et les caractéristiques de surface influencent la



fixation des micro-organismes, mais les communautés sur différents substrats convergent au fil du temps à mesure que leurs biofilms arrivent à maturité (Amaral-Zettler *et al.* 2020; Zhao *et al.* 2022). Par ailleurs, aucun effet de la taille des microplastiques sur la composition de la communauté microbienne n'a été observé (Frère *et al.* 2018).

### c) Impact des conditions environnementales

Les communautés bactérienne et fongique des plastisphères terrestres et aquatiques apparaissent différentes (Peng *et al.* 2022b). Des études ont montré que diverses conditions environnementales telles que le pH, la température de l'eau, l'oxygène dissous, l'éclairage, les concentrations en nutriments, la salinité et l'hydrodynamique peuvent avoir un impact sur la composition et les caractéristiques fonctionnelles de la plastisphère. Une étude a révélé que les nutriments jouent un rôle majeur dans la variation de la communauté microbienne par rapport aux autres facteurs physico-chimiques (Zhang *et al.* 2022). Certaines études ont également souligné que la composition et la structure de la plastisphère sont fortement affectées par l'acidification des océans, qui est causée par l'augmentation des niveaux de dioxyde de carbone (Harvey *et al.* 2020). Ces facteurs environnementaux sont étroitement liés à la biogéographie, qui constitue un autre élément fondamental influençant la diversité microbienne des plastisphères dans divers environnements aquatiques (Amaral-Zettler *et al.* 2015). Les gradients de salinité, par exemple, se sont révélés plus impactants que les propriétés de surface sur les communautés microbiennes de la plastisphère (Kesy *et al.* 2019; Li *et al.* 2019b; Oberbeckmann *et al.* 2018; Zhao *et al.* 2022). La salinité a également été associée à l'abondance d'espèces potentiellement pathogènes telles que des *Vibrio* (Kesy *et al.* 2019; Li *et al.* 2019b). De plus, une méta-analyse a mis en évidence le rôle clé de l'exposition à la lumière dans la formation des communautés de plastisphère, indiquant que ce sont les variables environnementales, et non le type de plastique, qui ont le plus grand impact sur la composition microbienne (Sérvulo *et al.* 2023; Wright *et al.* 2021a; Zhao *et al.* 2022). La composition de la communauté microbienne des biofilms sur les microplastiques dans les milieux naturels dépend également des micro-organismes déjà présents ou rejetés dans les écosystèmes aquatiques à partir de diverses sources telles que les stations d'épuration. Par exemple, il a été démontré que les microplastiques qui traversent l'intestin de la moule bleue (*Mytilus edulis*) développent une composition de communauté bactérienne similaire à celle du microbiome intestinal de la moule (Kesy *et al.* 2017). La communauté





microbienne spécifique au plastique n'apparaît donc pas résiliente mais au contraire réversible (Pinnell & Turner 2020), présentant des variations marquées selon les sites géographiques, tels que l'estuaire, le port ou le large.

#### d) Impact du temps d'immersion

Le cycle de vie de la plastisphère aquatique peut être divisé en trois étapes, à savoir la colonisation précoce, la succession communautaire et l'équilibre dynamique (Amaral-Zettler *et al.* 2020; Zhao *et al.* 2022). Ainsi, l'augmentation de la durée d'immersion entraîne une nette augmentation de la quantité totale de biofilm (Tu *et al.* 2020). Même si les premiers colonisateurs du plastique diffèrent souvent de ceux des environnements naturels ou de l'eau environnante, ces communautés ont tendance à devenir similaires avec le temps (Ma *et al.* 2023). La saisonnalité joue également un rôle dans la composition de la communauté, affectant les bactéries, les champignons et autres eucaryotes de manière générale (Sérvulo *et al.* 2023), chaque saison présentant des caractéristiques hydrodynamiques et physico-chimiques spécifiques. De plus, le temps d'immersion serait un des facteurs importants affectant le degré de dégradation (Cai *et al.* 2018).

## B. Dégradation abiotique

Les plastiques terrestres subissent des processus environnementaux qui accélèrent leur fragmentation, comme l'exposition aux rayons ultraviolets, les températures relativement élevées sur Terre, et les altérations mécaniques (Cózar *et al.* 2014; Eriksen *et al.* 2013). Par comparaison, les plastiques marins sont soumis à des variations moins marquées et leur fragmentation peut potentiellement être plus lente (Kumar A. *et al.* 2020). Parmi les facteurs prédominants de fragmentation, les conditions météorologiques jouent un rôle majeur, notamment les événements extrêmes. Une étude menée par Moore *et al.* (2002) dans les eaux californiennes a démontré que la densité moyenne de plastiques était sept fois plus élevée après une tempête, et que la taille moyenne des particules de plastique diminuait après ce type d'épisode météorologique.

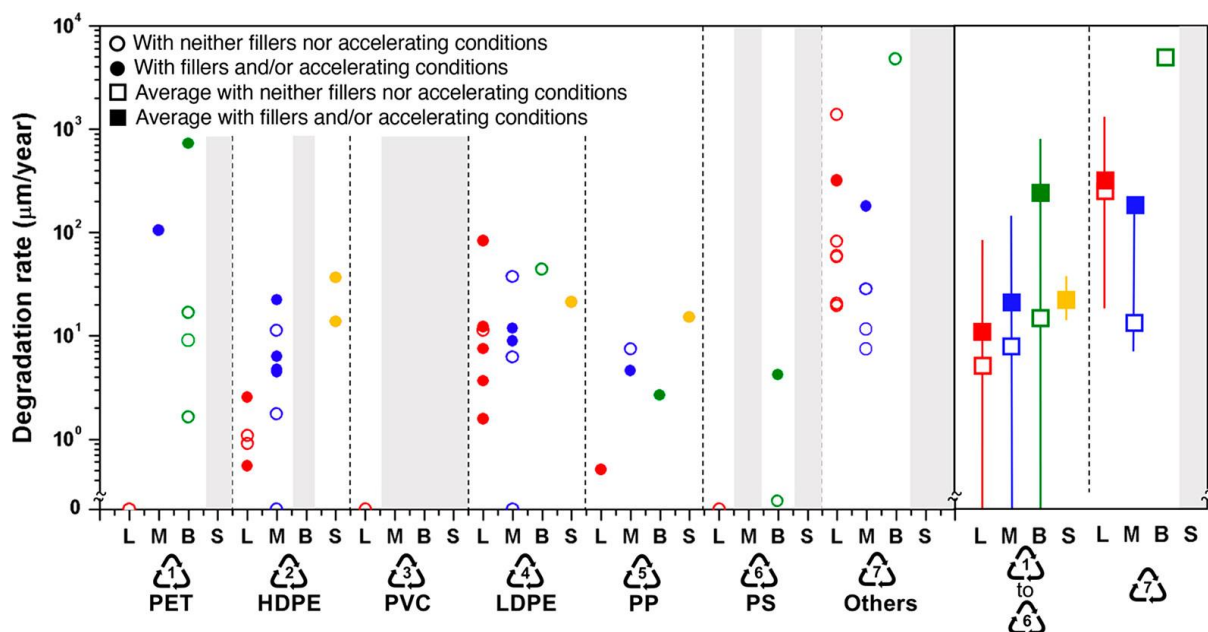
L'exposition prolongée aux rayons ultraviolets peut engendrer la photodégradation du polymère, induisant une rupture des liaisons chimiques, la diminution de leur masse moléculaire, favorisant une oxydation de la structure polymérique ainsi que sa désintégration



en plus petits fragments. Les processus d'oxydation avancés (POA) génèrent des espèces réactives de l'oxygène telles que les radicaux hydroxyle et sulfate, qui attaquent et déstabilisent les liaisons des polymères. Ces processus peuvent fragmenter les microplastiques voire même provoquer leur minéralisation complète (Sutkar et al. 2023). Les mécanismes de décomposition des POA comprennent la photodégradation directe, l'oxydation photocatalytique et l'oxydation électrochimique.

Un autre mécanisme de dégradation chimique est l'hydrolyse, qui est déclenchée par les interactions entre les molécules d'eau et les liaisons covalentes hydrolysables (Andrady 2011). Les déchets plastiques dans les océans et les cours d'eau subissent une dégradation mécanique résultant d'une combinaison de forces, incluant la force de cisaillement induite par les vagues et les courants, ainsi que l'abrasion provenant des particules de sédiments. Ces forces mécaniques peuvent donc également provoquer l'érosion et la fragmentation des plastiques (Born *et al.* 2023). Par exemple, l'abrasion physique causée par le sable a amplifié la libération de microplastiques à partir de masques jetables pendant la pandémie de COVID-19, avec plus de 16 millions de particules libérées par un seul masque altéré en présence de sable, comparativement à 1,5 million dans un environnement aquatique (Wang *et al.* 2021).

Les fluctuations de température et les variations climatiques peuvent également entraîner une expansion ou une contraction des plastiques. De nombreuses microfissures apparaissent, fragilisant la surface du plastique et facilitant le détachement de microparticules. De plus, certaines observations par Pischedda *et al.* (2019) indiquent que les taux de dégradation augmentent avec l'élévation de la température, avec une duplication de la vitesse de réaction tous les 10 °C. Cependant, étant donné que les températures océaniques sont inférieures aux températures de fusion du plastique et que les concentrations en oxygène sont relativement faibles, la fragmentation dans les environnements marins est plus lente (Andrady 2011; Menéndez-Pedriza & Jaumot 2020). Par conséquent, bien que ce paramètre ait peu d'impact en milieu océanique, il contribue à la stabilité des déchets plastiques dans les habitats marins froids. De plus, les plastiques situés au fond de l'océan ne sont pas exposés à la lumière solaire. Par exemple, un revêtement sous-marin en polyéthylène mettra environ 800 ans à se dégrader au fond de l'océan, comparé à moins de 400 ans dans les eaux côtières peu profondes (Oluwoye *et al.* 2023) : ces données étant à relativiser car basées sur des



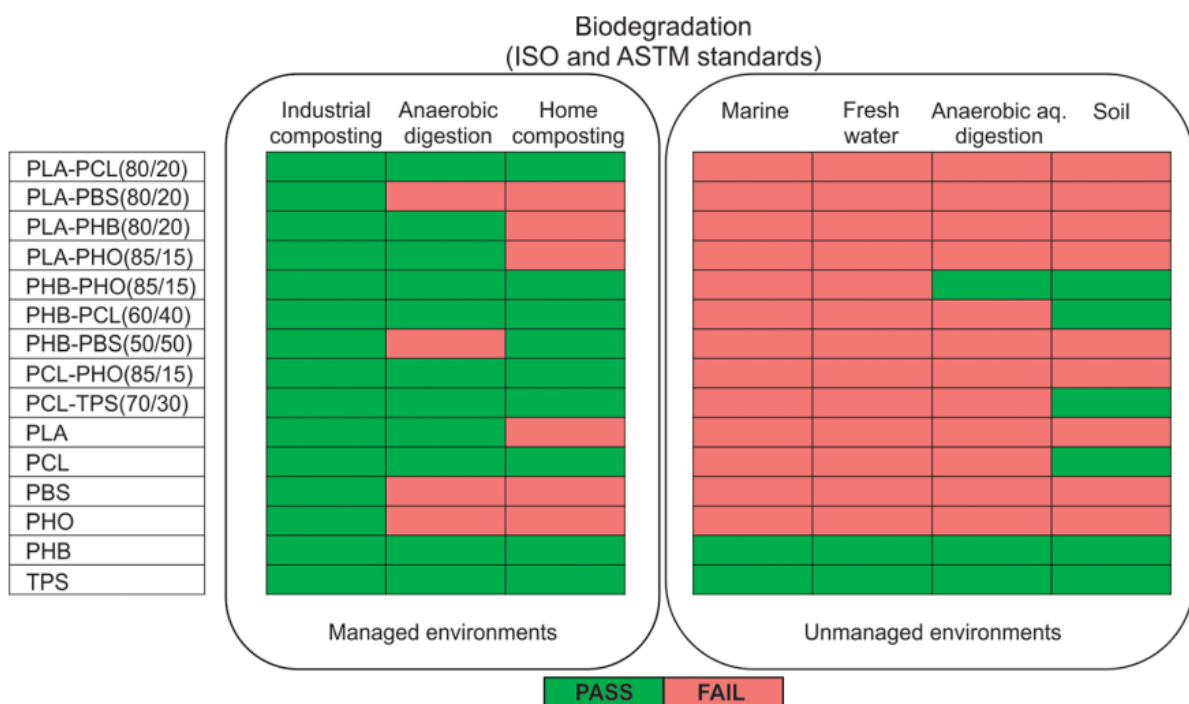
**Figure 22. Estimation du taux de dégradation de surface spécifique pour divers plastiques, en  $\mu\text{m an}^{-1}$**  (Chamas et al. 2020).

Les colonnes verticales représentent différentes conditions environnementales (L, décharge/compost/sol ; M, marin ; B, biologique ; S, soleil) et types de plastiques (représentés par leurs codes d'identification de résine). Les plastiques de type 7, « autres », correspondent à divers plastiques nominalement biodégradables. La fourchette et la valeur moyenne pour les plastiques de types 1 à 6 sont indiquées respectivement à droite sous forme de cercles (cercle vide : sans charges ni conditions accélératrices, cercle rempli : avec des charges ((par exemple, amidon, PLA, etc.) et/ou des conditions accélératrices (par exemple, prétraitement UV, prétraitement thermique ou incubation microbienne)) et de carrés (carré vide : moyenne sans charges ni conditions accélératrices, carré rempli : moyenne avec charges et conditions accélératrices), ainsi que pour les « autres » biodégradables. Les points de données représentant des taux de dégradation incroyablement lents sont affichés sur l'axe des x. Les colonnes grises représentent les combinaisons pour lesquelles aucune donnée n'a été trouvée.

estimations. La prise en compte de l'ensemble de ces facteurs de risque amène à la conclusion d'un fort potentiel de génération de microplastiques principalement au niveau des zones côtières (e.g. plages) (Andrady 2011).

Les articles en plastique à usage unique courants, comme les sacs en plastique LDPE, et les bouteilles de lait et les contenants de détergent à lessive en HDPE, ont des demi-vies estimées respectivement à 5 et 250 ans, dans des conditions de mise en décharge/compost/sol. Dans le milieu marin, les demi-vies estimées sont plus courtes, respectivement de 3,4 et 58 ans (Chamas *et al.* 2020). Il a été estimé que la dégradation complète d'une bouteille en HDPE nécessiterait respectivement 500 et 116 ans dans les environnements terrestre et marin. Les taux de dégradation peuvent varier d'un environnement à l'autre en fonction principalement des conditions météorologiques et géographiques (Chamas *et al.* 2020). Pour les articles industriels plus lourds comme les tuyaux en HDPE, une dégradation complète peut nécessiter des milliers d'années, quel que soit l'environnement considéré (Chamas *et al.* 2020).

Une étude a recueilli les taux de dégradation signalés dans 25 articles publiés (**Figure 22**) afin de calculer le taux de dégradation de surface (perte de masse, dimensions de l'échantillon, durée de l'expérience). Bien que les plastiques biodégradables, tels que le PHB et le PLA, présentent des SSDR (taux de dégradation spécifique de la surface) moyens élevés dans des conditions de compostage et de mise en décharge (59 et 21  $\mu\text{m an}^{-1}$ , respectivement), leur dégradation dans les environnements marins est nettement plus lente et peut même être comparable aux taux de dégradation de leurs homologues conventionnels. Par exemple, le taux de dégradation de surface spécifique moyen du PLA dans le milieu marin, 7,5  $\mu\text{m an}^{-1}$ , est similaire aux moyennes du HDPE (4,3  $\mu\text{m an}^{-1}$ ) et du LDPE (15  $\mu\text{m an}^{-1}$ ). Bien que le PLA et d'autres plastiques "biodégradables" soient censés se dégrader complètement dans des conditions de compostage industriel (température  $\geq 60$  °C et humidité  $\sim 50-90\%$ ), la température dans les environnements marins dépasse rarement 20°C d'où un manque d'énergie thermique pour la dépolymérisation. Cependant, dans les conditions du sol, le taux de dégradation de surface spécifique moyen du PLA est nettement plus élevé (21  $\mu\text{m.an}^{-1}$ ) que les valeurs correspondantes pour les plastiques d'origine conventionnels (e.g. HDPE, 1,0  $\mu\text{m.an}^{-1}$ ). Les températures dans les usines de compostage industriel pourraient atteindre 80



**Figure 23. Capacité de biodégradation des bioplastiques testés dans des environnements gérés et contrôlés, conformément aux normes internationales de biodégradation (Narancic et al. 2018).**

à 100 °C, ce qui est suffisant pour dégrader les plastiques comme le PLA tant que l'humidité est adéquate.

Plus précisément, une étude de Narancic *et al.* (2018) a été menée pour examiner le comportement de plastiques biodégradables sélectionnés et de leurs combinaisons (mélanges) dans divers environnements simulés, qu'ils soient contrôlés ou non (**Figure 23**). L'objectif était d'acquies une meilleure compréhension de leur évolution potentielle dans l'environnement et des options envisageables pour la gestion de leur fin de vie. Les résultats ont révélé que les mélanges de plastique ont subi une dégradation plus importante dans les bacs de compostage domestique par rapport aux polymères qui les composent, traités de manière individuelle. Toutefois, dans les environnements aquatiques et terrestres, les mélanges de plastiques se dégradent plus lentement, ce qui constitue un défi majeur, car ils sont sous la forme la plus courante dans l'environnement (Narancic *et al.* 2018). Par conséquent, il est essentiel de réaliser d'autres études similaires pour approfondir ces constatations.

Les facteurs abiotiques listés en amont agissent en synergie, comme mis en évidence par (Ariza-Tarazona *et al.* 2020) qui indique que des conditions de basse température (0 ° C) et un pH réduit (pH 3) peuvent considérablement augmenter l'efficacité de la dégradation photocatalytique du polyéthylène, contrastant avec les études précédemment citées. Les scissions de chaîne des polymères lors de la dégradation photonique, thermique et chimique auront un impact sur l'apparence, la texture et les caractéristiques mécaniques des matériaux plastiques. Des altérations de la surface, telles que des fractures, des rainures, des pores et des fissures profondes, ainsi que des variations de couleur, comme le jaunissement et la décoloration, sont observées, accompagnées de la fragmentation et de la formation de microplastiques, mais également de produits de dégradation à faible poids moléculaire.

L'ensemble de ces facteurs facilite *in fine* la colonisation des communautés microbiennes et par conséquent la dégradation biotique.



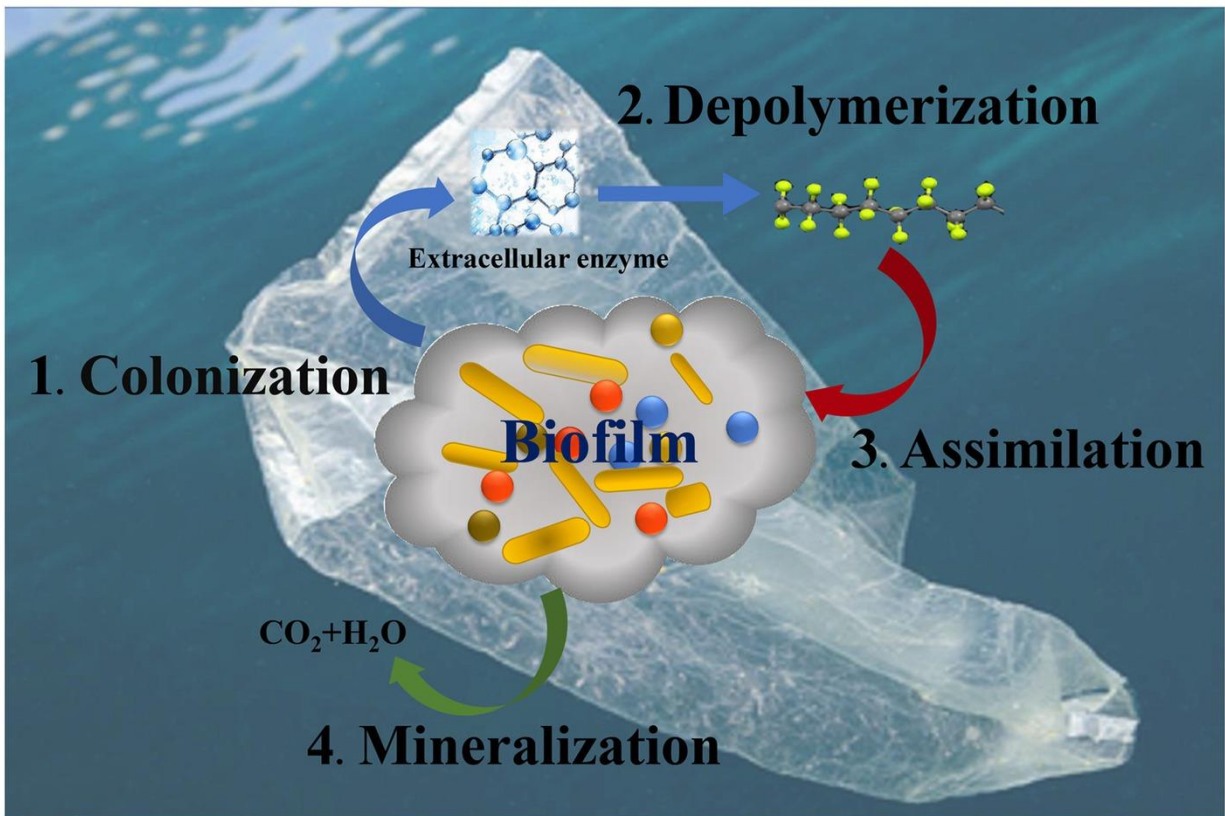
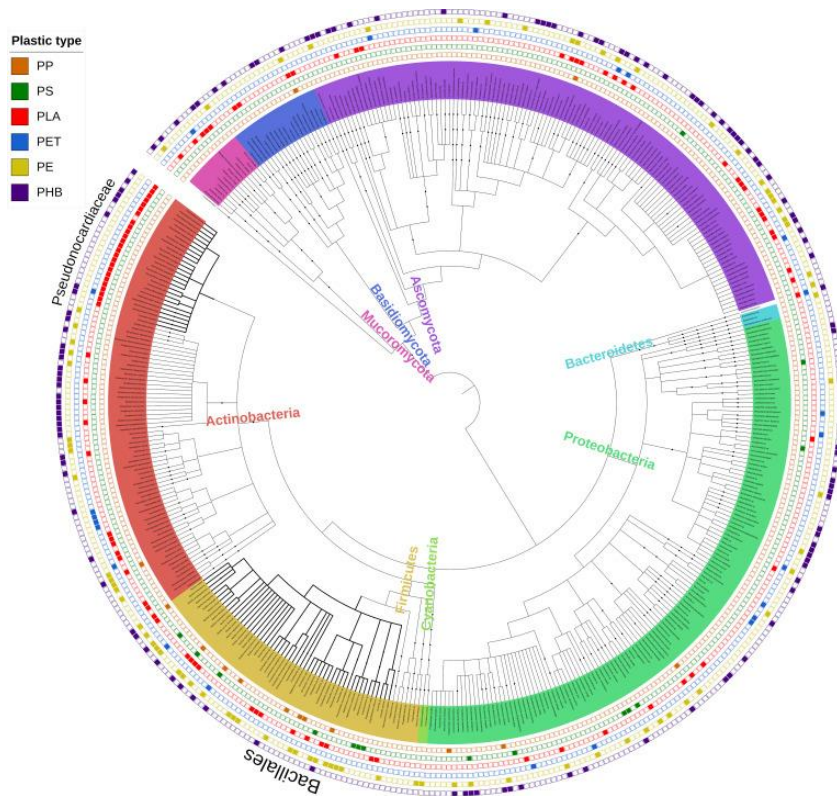


Figure 24. Le mécanisme de biodégradation des microplastiques (Zhai et al. 2023).

## C. Biodégradation

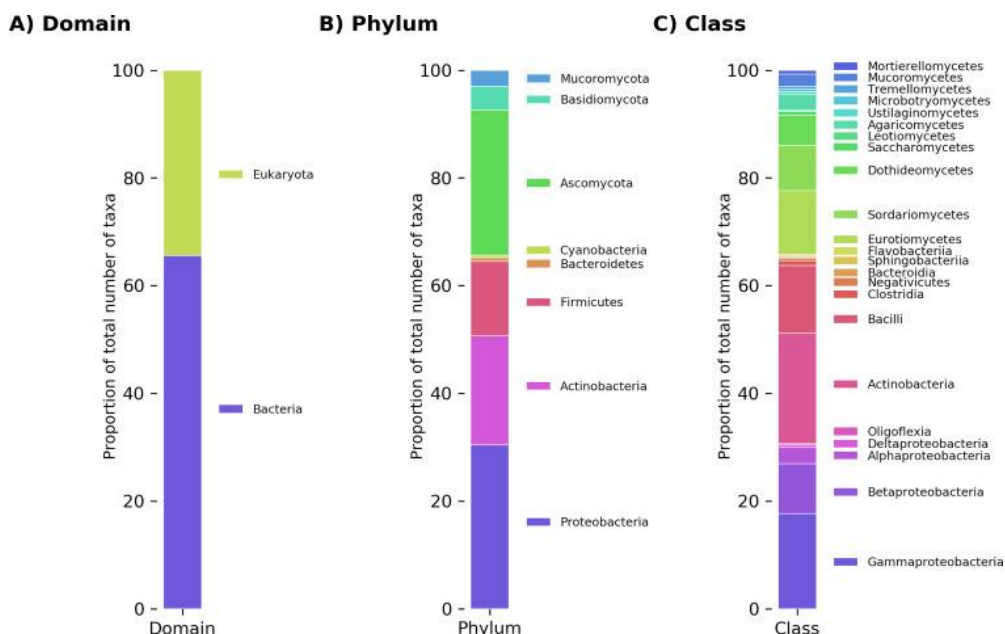
Les processus de dégradation du plastique par voies biochimiques incluent la biodétérioration, la biofragmentation, l'assimilation et la minéralisation. La biodétérioration commence par l'adhésion et la colonisation de micro-organismes sur la surface du polymère, visant à diminuer la résistance et la durabilité des matières plastiques (Amobonye *et al.* 2021). En favorisant l'adhésion des micro-organismes, l'introduction de surfactant comme amendement ou la production de biosurfactant par les micro-organismes stimule la colonisation microbienne en réduisant l'hydrophobicité, tout en agissant comme une source de carbone (co-métabolisme) (Cheng *et al.* 2022). Ensuite, la biodégradation des plastiques repose sur l'action d'enzymes microbiennes qui induisent la rupture des liaisons chimiques des polymères, appelée étape de biofragmentation. Cela conduit à une dépolymérisation en oligomères, dimères et même monomères de faible poids moléculaire. Après dépolymérisation, les oligomères pénètrent dans les cellules et servent de source de carbone pour la croissance microbienne. En outre, des micro-organismes sont en mesure d'assimiler et de finaliser l'oxydation des produits intermédiaires issus de la dégradation initiale (**Figure 24**). La biodégradation peut être partielle ou complète. La biodégradation complète entraîne la formation de différents types de microplastiques en produits de dégradation, tels que le CO<sub>2</sub>, et H<sub>2</sub>O, via le cycle TCA, l'une des principales voies métaboliques de production d'énergie (Zhai *et al.* 2023) et est également appelée "biominéralisation". D'autre part, dans des conditions anaérobies, la dégradation de polymères plastiques par des bactéries amène à la production de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> et H<sub>2</sub>O (Viel *et al.* 2023). Les métabolites libérés lors de la biodégradation sont considérés comme non toxiques et peuvent subir une redistribution naturelle à travers les cycles biogéochimiques (Bautista-Zamudio *et al.* 2023).

À l'intérieur de la cellule microbienne, les monomères sont oxydés par les voies cataboliques microbiennes pour générer de l'énergie à partir de composés organiques et du CO<sub>2</sub>. Ces processus sont essentiels pour les événements cellulaires et métaboliques, et sont en grande partie régis par le cycle du TCA.



**Figure 25.** Arbre phylogénétique montrant tous les micro-organismes identifiés à ce jour comme ayant des capacités potentielles de dégradation des plastiques.

La relation phylogénétique entre les espèces a été téléchargée depuis la base de données taxonomiques NCBI. Les feuilles sont colorées en fonction de leurs phylums correspondants. Les points de données tracés à l'extérieur de l'arbre représentent la capacité de chaque micro-organisme à dégrader chacun des plastiques indiqués dans la légende. L'ordre de la légende de haut en bas est le même que l'ordre des anneaux externes à l'arbre, de l'intérieur vers l'extérieur (Gambarini et al. 2021).



**Figure 16.** Abondance relative de tous les taxons qui dégradent les plastiques au niveau du domaine (A), du phylum (B) et de la classe (C) (Gambarini et al. 2021).

## 1. Les organismes impliqués

Bien que plus de 400 espèces microbiennes aient été identifiées à ce jour comme dégradant le plastique (**Figure 25**), la preuve de leur capacité à décomposer des polymères couramment utilisés, tels que le PP, le nylon, le PS et le PVC, doit être considérée avec prudence (Lear *et al.* 2021). La plupart des études ne parviennent pas à distinguer si la perte de matière est due à la fuite de substances, à la dégradation des éléments de base des polymères, à des additifs ou à des charges. Même lorsque la dégradation du polymère est établie, comme dans le cas du PET, les micro-organismes rencontrent des obstacles pour dégrader les formes plus cristallines de ces polymères utilisées dans les plastiques commerciaux (Lear *et al.* 2021).

Parmi les 436 espèces répertoriées à ce jour pour leur aptitude à dégrader les plastiques, il a été constaté que la grande majorité d'entre elles sont des bactéries (n=286 espèces), ce qui représente 65,6 % du total d'espèces identifiées comme aptes à dégrader les plastiques. Ces bactéries se répartissent au sein de seulement 5 des 31 phylums connus, à savoir les Protéobactéries (30,4%), les Actinobactéries (20,3%), les Bacillota (13,8%), les Bacteroidota (0,69%) et les Cyanobactéries (0,46%). Selon une étude bibliographique, les bactéries les plus étudiées appartiennent aux genres *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Brevibacillus*, la plupart isolées de sites contaminés, tels que des décharges (Matjašič *et al.* 2021). En ce qui concerne les organismes fongiques capables de dégrader le plastique, 150 espèces ont été dénombrées, soit 34,4 %, et se répartissent dans trois des 11 phylums fongiques décrits à savoir Ascomycota (27,0 %), Basidiomycota (4,4 %) et Mucoromycota (3,0 %). Dans la **figure 26**, le phylum Mucoromycota se compose des classes des Mucoromycetes (subphylum : Mucoromycotina) et des Mortierellomycetes (subphylum : Mortierellomycotina). Le phylum Basidiomycota comprend les Agaricomycetes, les Microbotryomycetes, les Tremellomycetes et les Ustilaginomycetes. Quant au phylum Ascomycota, il englobe les classes des Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Leotiomycetes, Saccharomycetes et Sordariomycetes. La classe des Eurotiomycetes, et notamment le genre *Aspergillus* (Amobonye *et al.* 2021), est considérée comme le groupe de champignons recensant le plus de représentants impliqués dans la dégradation du plastique (**Figure 16**). Les champignons filamenteux et les levures dimorphes peuvent étendre leur réseau de filaments à travers les substrats pour rechercher



des nutriments. Cela favorise l'élargissement des pores et induit la formation de fissures, ce qui, à son tour, conduit à une réduction de la résistance et de la durabilité du polymère.

Les champignons sont souvent plus efficaces que les bactéries pour dégrader les plastiques, notamment pour leur capacité à produire un large éventail d'enzymes, telles que les peroxydases, oxydases, hydrolases, cutinases et lipases, mais également pour leur capacité à exprimer les gènes *RoIA* et *hsbA*, responsables de la synthèse des protéines de liaison HsbA, permettant aux cellules fongiques de se lier aux surfaces hydrophobes (Okal *et al.* 2023). Également, les hydrophobines représentent d'autres protéines hydrophobes de surface produites par des champignons et agissent comme des biosurfactants améliorant la mobilité du substrat et augmentant la biodisponibilité. Une altération fongique de type "érosion biologique fongique" ("fungal weathering"), est alors mise en évidence par des traces de dissolution sur la surface minérale, qui apparaissent comme de grandes zones avec un aspect différent de celui de la surface minérale d'origine, après captation sélective des ions (destruction du réseau cristallin) (Bindschedler & Verrecchia 2019). Néanmoins, si le taux de dégradation par des champignons est plus élevé que celui par des bactéries, la décomposition du plastique par les champignons exige des conditions de stabilité plus importantes (Ali *et al.* 2021a; Muhonja *et al.* 2018; Urbanek *et al.* 2021).

Seules quelques études ont évalué la capacité des espèces d'algues à coloniser et dégrader les plastiques. Cependant, les algues apparaissent comme des candidats potentiels pour la production d'enzymes car elles ne contiennent pas d'endotoxines, ne nécessitent pas de carbone organique et ont la capacité de se fixer sur une surface en plastique (Ali *et al.* 2021a). Moog *et al.* (2019) ont utilisé une microalgue marine capable de produire et de sécréter une version modifiée de la PETase dans le milieu de culture environnant pour la dégradation du PET. De nombreuses espèces d'algues (*Anabaena spiroides*, *Chlorella* sp., *Phormidium lucidum*, *Scenedesmus dimorphus*, *Nostoc* sp. et *Sellaphora pupula*) semblent efficaces pour la dégradation microplastique des algues (Chia *et al.* 2020).

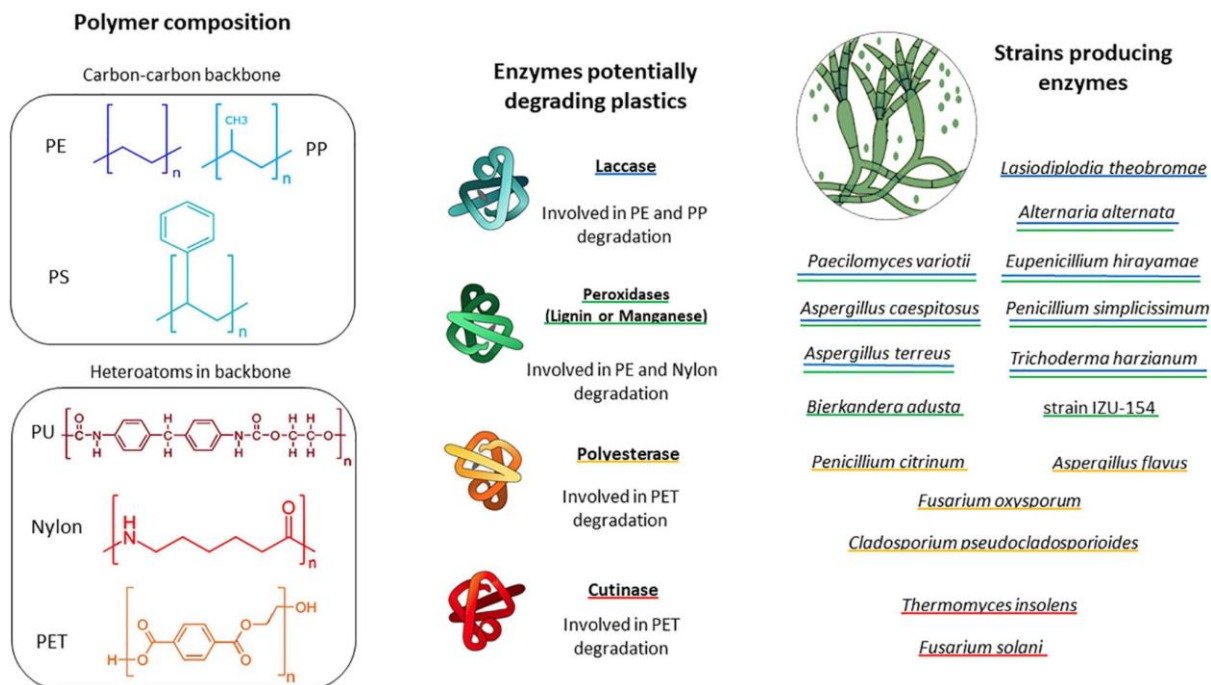


## 2. Les enzymes

Dans les environnements naturels, la biodégradation est médiée par des enzymes extracellulaires et intracellulaires comprenant des hydrolases (telles que estérases, lipases, kératinases et cutinases) et des oxydoréductases (telles que laccase, peroxydase manganèse-dépendante, hydroxylase et peroxydases de lignine) ou d'autres composés (tels que des acides et des peroxydes), sécrétés par des micro-organismes (Zhai *et al.* 2023). Les enzymes extracellulaires, qui sont les plus étudiées, semblent jouer un rôle dans des réactions qui se produisent à l'interface solide/liquide, car elles agissent sur les macromolécules disponibles à la surface du plastique solide lorsqu'il est en contact avec la phase liquide (Chinaglia *et al.* 2018). D'autre part, de nombreuses enzymes intracellulaires sont chargées des processus aérobies et anaérobies nécessaires pour convertir les intermédiaires en composés assimilables par les microbes (Amobonye *et al.* 2021). D'un point de vue biotechnologique, les enzymes microbiennes sont préférées aux enzymes d'origine animale ou végétale en raison de leur large gamme d'activités catalytiques, de leur rendement supérieur, de leur facilité de manipulation génétique, de la croissance rapide des micro-organismes, de leur stabilité, et de leur production pratique et sécurisée (Satti & Shah 2020). Une récente étude métagénomique suggère que les microbiomes des océans et des sols pourraient déjà s'adapter aux niveaux de pollutions plastiques actuelles (Zrimec *et al.* 2021).

Les champignons sécrètent des enzymes extracellulaires, telles que des cutinases, lipases et des protéases, des carboxylestérases, des estérases, des enzymes lignocellulolytiques, et certains ions pro-oxydants qui dégradent les plastiques (Srikanth *et al.* 2022). La quantité d'enzymes produites et sécrétées par les champignons est nettement supérieure à celle des enzymes bactériennes (Liu *et al.* 2022a). De plus, en raison de leur implication importante dans la décomposition de la matière organique du sol, parfois réfractaire, et de leur polyvalence métabolique (Bautista-Zamudio *et al.* 2023), les champignons semblent être de bons candidats. Ces organismes ont acquis une capacité à s'adapter à des environnements en constante évolution et à supporter divers types de polluants.





**Figure 27. Schéma des types importants de plastiques rencontrés dans l'environnement marin. Les enzymes fongiques et les espèces fongiques potentiellement impliqués dans la dégradation des plastiques sont affichées.**

Le soulignement bleu indique les champignons produisant de la laccase. Le soulignement vert indique les champignons produisant de la peroxydase, le soulignement jaune indique les champignons produisant de la polyestherase et le soulignement rouge indique les champignons produisant de la cutinase. PE, polyéthylène ; PP, polypropylène ; PS, polystyrène ; PU, polyuréthane ; Nylon, polyamides ; PET, polyéthylène téréphtalate (Zeghal et al. 2021).

La faible spécificité fonctionnelle et le potentiel rédox élevé des peroxydases et des laccases permettent l'oxydation d'une large gamme d'hydrocarbures aromatiques et d'autres contaminants récalcitrants (**Figure 27**) (Prenafeta-Boldú *et al.* 2019). Par ailleurs, ils ont la capacité à décomposer et à minéraliser la lignine partageant des caractéristiques similaires avec les polymères plastiques, en particulier avec des polymères non hydrolysables tels que le PE, le PP et le PVC (Zhang *et al.* 2021). En ce qui concerne certaines propriétés physiques, telles que l'hydrophobicité ou leur structure chimique (présence de liaisons éther, cycles aromatiques non phénoliques, squelette carboné, etc.), qui est oxydée lors de la dégradation de la lignine. Les liaisons chimiques des monomères du plastique, semblables à celles des polymères naturels comme les composés lignocellulosiques, suggèrent donc que de nombreuses enzymes liées à la dégradation de la lignine peuvent aussi jouer un rôle dans la biodégradation des polymères non hydrolysables, un procédé également connu sous le nom de "métabolisme fortuit" (Ali *et al.* 2021a; Zhang *et al.* 2021).

Les deux types de composés énoncés (polymères lignocellulosiques et plastiques) représentent des polymères hydrophobes avec des régions amorphes et cristallines. De fait, des activités hydrolytiques et oxydantes sont alors nécessaires pour les dégrader. Les cutinases et les cellulases sont aussi des enzymes majeures impliquées respectivement dans la dégradation du plastique et de la lignocellulose (Daly *et al.* 2021). Les cutinases (EC 3.1.1.74) sont des estérases qui appartiennent à la famille des  $\alpha/\beta$  hydrolases (Sahu *et al.* 2023). Une étude souligne le potentiel de ces enzymes dans la pollution microplastique, impliquée dans la dégradation de divers types de plastiques, notamment le PET, le PCL, le PU et le PBS, même si leur efficacité varie en fonction du polymère et de ses caractéristiques spécifiques (Sahu *et al.* 2023). En outre, les stratégies fongiques pour la dégradation de la lignocellulose peuvent être appliquées à la dégradation du plastique. Cela comprend la capacité des champignons à surmonter l'hydrophobie de la lignine, par exemple, en produisant par exemple des hydrophobines, ainsi que leur capacité à traiter la cristallinité\* de la cellulose, notamment par des méthodes oxydatives (Daly *et al.* 2021). Aussi, grâce à la production d'enzymes non spécifiques, les champignons sont capables de s'attaquer aux xénobiotiques complexes et récalcitrants comme les plastiques (Daly *et al.* 2021; Puliga *et al.* 2023). A l'avenir, le développement d'enzymes modifiées devrait permettre de diminuer encore davantage la



spécificité des enzymes fongiques et d'obtenir de meilleurs résultats de dégradation (Liu *et al.* 2022a).

Le potentiel des champignons dans les processus de bioremédiation est aussi mis en évidence par leur capacité à dégrader les hydrocarbures pétroliers, comprenant des alcanes, des composés aromatiques et des composés azotés-soufrés-oxygénés (Mahmud *et al.* 2022). De plus, les champignons marins, adaptés aux conditions marines aux conditions stringentes (basses températures, salinité élevée, hautes pressions et conditions oligotrophes), représentent une source prometteuse de nouveaux composés d'intérêt, tels que des enzymes, absents chez leurs homologues terrestres (Bonugli-Santos *et al.* 2015). La bioremédiation est une méthode respectueuse de l'environnement et efficace, capable d'éliminer les déchets plastiques (Sánchez 2020). La polyvalence métabolique des champignons et leur capacité à dégrader des composés complexes indiquent que la biodégradation des plastiques dans l'environnement pourrait être un trait métabolique potentiel de certains champignons (Vaksmas *et al.* 2021).

Toutefois, comme on peut l'observer dans les études sur la biocolonisation, il existe également des disparités d'attention entre les procaryotes et les micro-eucaryotes, notamment les champignons (**Annexe 1**), bien que leur rôle potentiel dans la biodégradation des plastiques ait été mis en évidence. De plus, les organismes capables de dégrader les plastiques ont été étudiés de manière plus approfondie dans les environnements terrestres comparativement aux environnements aquatiques, en particulier marins (**Annexe 2**).

### 3. Biodégradation des polymères conventionnels

Les polymères retrouvés en milieu marin étant principalement des plastiques conventionnels, tels que le PE et PP pour les microplastiques, et les PE, PET et PS pour les mésoplastiques (Debroas *et al.* 2017a), les monomères utilisés pour leur synthèse proviennent d'hydrocarbures fossiles. Parmi ces composants du pétrole, on peut citer les résines, les asphaltènes et d'autres composés à poids moléculaire élevé, caractérisés par des taux de biodégradation extrêmement lents (Rogers *et al.* 2020). Ainsi, les microplastiques sont également colonisés par des bactéries potentiellement impliquées dans la dégradation des

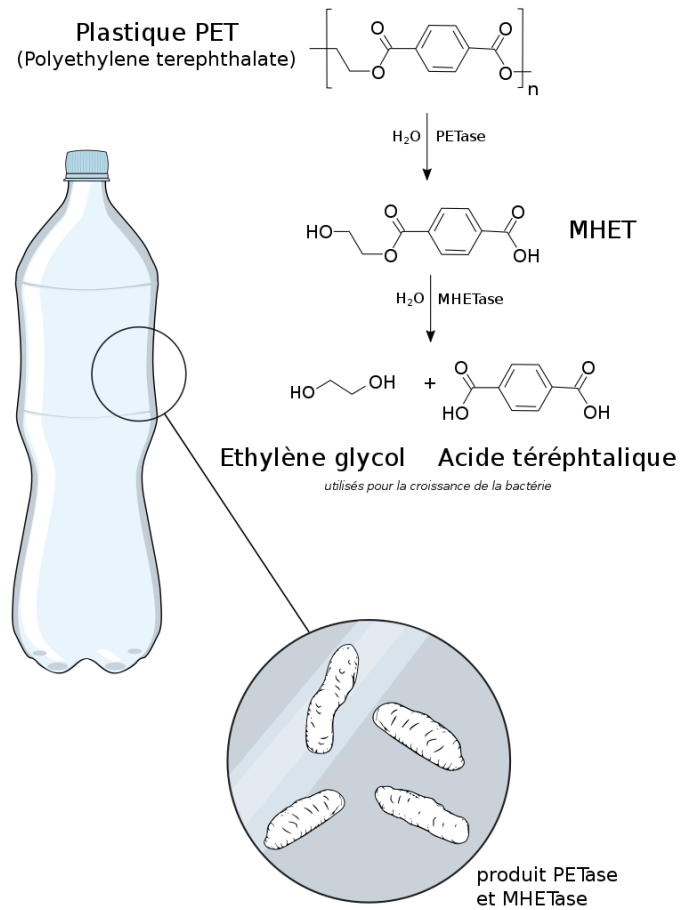


Figure 28 : Schéma de dégradation du PET par *Ideonella sakaiensis* (Anon 2023).

hydrocarbures, également appelées hydrocarbonoclastes, telles que les Rhodobacteraceae et des dégradeurs d'hydrocarbures connus tels que les genres *Oleiphilus*, *Oleispira*, *Alcanivorax*, *Marinobacter* et *Cycloclasticus* (Vaksmaa *et al.* 2021), des dégradeurs obligatoires d'hydrocarbures (Brooijmans *et al.* 2009). D'autres espèces dégradant le pétrole ont également été trouvées sur des particules de plastique, notamment *Pseudoalteromonas*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Alteromonas*, *Oceanospirillales* et *Colwellia* (Rogers *et al.* 2020).

Moins de la moitié des études portant sur les bactéries (44 %) ont examiné la biodégradabilité des polyéthylènes et de leurs dérivés, principalement ceux de basse densité\* (Matjašič *et al.* 2021). Aussi, la plupart des isolats rapportés dans la littérature provenaient du sol ou de sites de traitement des déchets tels que les installations de compostage et les décharges (Zhai *et al.* 2023). Par exemple, la bactérie *Ideonella sakaiensis*, isolée de sédiments provenant d'une usine de recyclage de bouteille en plastique, hydrolyse le PET en deux monomères à priori inoffensifs pour l'environnement, à savoir l'acide téréphtalique (TPA) et l'éthylène glycol, via l'action de deux enzymes, une nouvelle cutinase (appelée PETase) et une autre hydrolase, la MHETase (Tanasupawat *et al.* 2016) (**Figure 28**). Cette bactérie utilise les produits de dégradation comme source d'énergie et de carbone. *I. sakaiensis* est le premier organisme pour lequel la dégradation du PET a été bien décrite et la dégradation enzymatique du PET élucidée, caractérisée (Austin *et al.* 2018) et même optimisée (Son *et al.* 2019). Une étude a indiqué que les hydrolases de PET se retrouvent principalement dans les groupes des Actinobactéries, Protéobactéries et Bacteroidota et que les hydrolases PET sont des enzymes rares (Danso *et al.* 2018). Une autre étude a montré que des bactéries hétérotrophes capables de coloniser le polyéthylène téréphtalate (PET) avaient une capacité de survie prolongée par rapport à celles présentes dans l'eau de mer environnante. De plus, des altérations notables dans les caractéristiques physicochimiques des échantillons de plastique ont été observées, suggérant la présence de bactéries capables de dégrader le plastique et d'utiliser les composants plastiques comme source de carbone (Webb *et al.* 2009).

Concernant les champignons, des études récentes ont démontré que certains isolats fongiques issus d'habitats marins, tels que ceux affiliés aux espèces *Zalerion maritima* ATCC 34329 (Paço *et al.* 2017) et *Alternaria alternata* FB1 (Gao *et al.* 2022a), ont la capacité de dégrader le polyéthylène. Concernant *Z. maritima*, une corrélation positive a été mise en



évidence entre la biomasse fongique et le pourcentage de masse des particules plastiques lorsque des cellules de *Z. maritima* étaient cultivées en milieu minimum contenant des particules de PE. Après 14 jours dans ces conditions, une variation de biomasse de  $82,0 \% \pm 2,1 \%$  était accompagnée d'une variation de masse des matériaux polymères de  $56,7 \% \pm 2,9 \%$ , c'est-à-dire une élimination dépassant 43 %. De plus, des modifications moléculaires ont été mises en évidence par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier à réflectance totale atténuée (FTIR-ATR) et par résonance magnétique nucléaire (RMN) (Paço *et al.* 2017). *Zalerion maritima* est donc capable d'utiliser du PE comme source de carbone, pendant sa croissance, entraînant une perte de masse et de la taille des pellets de PE ainsi qu'une augmentation progressive de l'intensité de pics correspondant aux liaisons hydroxyles, carbonyles, ainsi qu'à des doubles liaisons à la surface du PE. Le champignon marin, *Alternaria alternata* FB1, se développant sur un film de PE, a été identifié comme capable de dégrader rapidement ce film, se traduisant par de nombreux trous apparents sur la surface du plastique, une diminution de 95% du poids moléculaire en 120 jours et des pics d'absorption correspondant à la formation de liaisons carbonyles et hydroxyles. Les capacités de dégradation de deux enzymes, une oxydoréductase (laccase) et une peroxydase (glutathion peroxydase) ont été mises en évidence.

#### 4. Biodégradation des polymères biodégradables

Dans l'étude menée par Gambarini *et al.* (2021), il a été observé que le polymère naturel PHB est sujet à la dégradation par le plus grand nombre d'espèces, soit 126 espèces bactériennes et fongiques différentes qui sont potentiellement capables de dégrader ce bioplastique biodégradable. Ainsi, une majorité de micro-organismes ont la capacité de stocker et de dégrader les PHA en raison de la présence de la synthase des PHA (PhaC) et de la dépolymérase des PHA (PhaZ) (Chen *et al.* 2020; Zhou *et al.* 2023). L'inactivation de PhaZ a montré son influence positive sur l'accumulation de PHA chez *Pseudomonas putida* KT2442 (Cai *et al.* 2009). De plus, au moins 94 micro-organismes ont été identifiés comme ayant la capacité de dégrader le polymère synthétique PLA, dont 31 espèces fongiques et 63 espèces bactériennes.





## 5. Preuves de biodégradation

Les différentes études témoignant d'une biodégradation utilisent une ou plusieurs méthodes qui présentent des avantages et des inconvénients. Les preuves de dégradation dépendent donc des techniques appliquées, qui peuvent être divisées en trois catégories principales, celles qui détectent : i) les changements dans la structure du polymère, ii) la perte physique de masse plastique et iii) la génération de métabolites plastiques. Le taux de biodégradation peut être surveillé en mesurant la quantité de CO<sub>2</sub> libéré (Viel *et al.* 2023). L'analyse moléculaire du polymère par résonance magnétique nucléaire (RMN) et spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) peut également être utilisée pour déterminer l'occurrence de processus d'oxydation/hydrolyse au cours de la dégradation, ainsi que pour détecter la présence de groupes fonctionnels de produits dégradés dans le polymère. La dégradation abiotique du polymère entraîne la formation de groupes fonctionnels en surface, tels que les céto-carbonyles, esters, vinyloxy et doubles liaisons, qui altèrent la propriété hydrophobe de la surface en plastique (Rogers *et al.* 2020). Une autre méthode pour étudier la dégradation du plastique consiste à réaliser une évaluation directe en utilisant des techniques de culture microbienne.

La dégradation du plastique peut être aussi améliorée en combinant diverses techniques de dégradation, par exemple, l'usage de consortiums microbiens (Syranidou *et al.* 2019). Les changements les plus courants dans les polymères suite à une dégradation sont la perte de poids, la résistance à la traction, les changements chimiques et les changements à la surface des plastiques (**Annexe 2**). Ces résultats combinés représentent la meilleure preuve à ce jour de la biodégradation des plastiques.

**Focus sur les méthodes et approches mettant en évidence une dégradation de polymères**

**Tableau 3. Méthodes couramment employées pour évaluer les avantages et inconvénients de la dégradation du plastique (Zeghal et al. 2021).**

Méthodes	Principes	Avantages	Inconvénients
Quantification de la perte de masse	Mesure les modifications de la masse des polymères	Méthode la plus simple et la plus directe de quantifier l'ampleur de la dégradation des polymères Peu coûteuse	Peu précis Libération possible de petites molécules à l'écaillage de morceaux plus gros et insolubles, notamment les microplastiques et mésoplastiques Longues durées expérimentales nécessaires Augmentation de la masse en raison de l'incorporation d'oxygène et/ou de la fixation de micro-organismes
Formation d'un halo de dégradation	Apparition visuelle d'un halo de dégradation, zone plus claire autour des colonies/thalles fongiques sur gélose en présence de plastique	Facile	Présence d'agar, une autre source de carbone, impliquant la réalisation de témoins (agar comme seule source de carbone)

	minéralisation biotique ou abiotique dans un cadre contrôlé	polymère	A courte échelle de temps, peu probable que le carbone polymère soit complètement oxydé en CO <sub>2</sub>
Microscopie électronique à balayage (MEB) / Microscopie à force atomique (AFM)	Image en éclairant une surface avec un faisceau électronique de haute intensité et en la balayant Visualisation des changements physiques au sein du polymère	Images haute résolution de l'analyse surface Détails sur la structure et la morphologie de surface des résidus plastiques Echelle nanométrique Rapide	Nécessite une approche complémentaire
Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	Détection et semi-quantification les changements dans l'arrangement initial des polymères, tels que l'ajout de groupes carbonyle pendant l'oxydation	Aucun prétraitement de l'échantillon Sensibilité et reproductibilité élevées Détection fiable de groupes fonctionnels polaires, tels que les cétones et les esters carbonyles, typiques des voies de dégradation par oxydation	Sensible
Dosage des polymères marqués au <sup>13</sup> C	Traçage du carbone marqué isotipiquement	Quantification des produits issus de la dégradation du plastique	Coût élevé
Raman	Détection de faibles concentrations de	Aucun prétraitement de l'échantillon	

	substances chimiques telles que des polluants ou des microparticules de plastique	Sensibilité et reproductibilité élevées	
Culture microbienne	Milieu défini inoculé avec une population microbienne mixte ou des souches microbiennes individuelles ou des enzymes qui peuvent avoir été spécialement sélectionnées pour un polymère particulier	Taux de dégradation plus rapide que dans les conditions naturelles	Large éventail de caractéristiques des microorganismes (thermophiles, aérobies, anaérobies, pathogènes...) Conditions de croissance optimales différentes

Malgré l'absence de connaissances quant au mode d'action et au mécanisme de dégradation exact, il existe de nombreuses preuves soutenant l'implication directe des champignons dans la dégradation de divers types de plastiques.

En conclusion, cette introduction bibliographique visait à proposer une analyse approfondie des défis posés par la prolifération des plastiques dans l'environnement, avec un focus sur l'environnement marin. La croissance exponentielle de la production de plastique depuis le milieu du XXe siècle, combinée à une dépendance accrue à l'égard de ces matériaux dans divers secteurs, souligne l'urgence de trouver des solutions durables. La diversité des polymères plastiques et leur impact environnemental, notamment sur les écosystèmes marins et la santé humaine, ont été présentés, ainsi que les approches novatrices telles que l'utilisation de bioplastiques et la biodégradation microbienne offrant des pistes prometteuses pour atténuer les impacts négatifs des plastiques. Cette introduction pose les bases pour une exploration détaillée des interactions entre les communautés fongiques, largement sous-étudiés et sous-exploités, et les déchets plastiques marins. Elle souligne l'importance d'une approche multidisciplinaire pour comprendre la biogéographie de la plastisphère et l'influence des facteurs environnementaux sur la colonisation fongique des plastiques. La thèse se structure autour de trois axes majeurs : (i) **l'étude de la biogéographie de la plastisphère**, (ii) **l'obtention isolats fongiques représentatifs d'un point de vue environnemental et l'évaluation de leurs capacités de dégradation de polymères plastiques**, et (iii) **une analyse ciblée d'une espèce modèle à potentiel de dégradation de polyéthylène**. Ce travail vise à apporter une contribution significative à notre compréhension des mécanismes impliqués dans la colonisation et la biodégradation des plastiques marins, ouvrant ainsi la voie à des stratégies de gestion environnementale plus efficaces et durables."



## RÉSULTATS





Chapitre I - Diversité et dynamique fongiques lors de l'immersion à long terme de plastiques conventionnels et biodégradables dans l'environnement marin



## I - Préambule

Année après année, des millions de tonnes de polymères sont produits à l'échelle mondiale, et une part significative de cette production aboutit inévitablement dans tous les écosystèmes, qu'ils soient terrestres, atmosphériques, fluviaux ou marins, ces derniers étant considérés comme le réceptacle final des déchets plastiques. Cette pollution plastique océanique, résultant de l'accumulation croissante de déchets plastiques dans les océans à l'échelle mondiale, représente donc un enjeu environnemental majeur. En milieu marin, les polymères plastiques subissent une dégradation particulièrement lente, fragmentant leur structure en particules de faible taille, notamment sous forme de microplastiques. Ces débris plastiques sont susceptibles de se disperser sur des milliers de kilomètres carrés, engendrant ainsi des conséquences écologiques d'une ampleur considérable.

Le concept de "plastisphère" désigne la colonisation des matrices plastiques par diverses communautés microbiennes affiliées aux 3 domaines du vivant. Cependant, une analyse bibliométrique permet de remarquer un contraste marqué entre le nombre d'études portant sur les communautés bactériennes par rapport à celles axées sur les communautés micro-eucaryotes, en particulier fongiques.

Dans le cadre de cette première étude, menée grâce à plusieurs collaborations, deux types d'immersion ont eu lieu : dans des écosystèmes naturels et dans des environnements contrôlés (aquariums). Les objectifs étaient multiples : (i) explorer les communautés fongiques associées aux polymères par rapport à celles de l'eau de mer environnante, (ii) étudier les différences de structures entre les communautés fongiques associées aux polymères conventionnels et biodégradables, et (iii) évaluer l'impact de la géographie et (iv) du temps d'immersion sur l'évolution de la plastisphère fongique. Ainsi, des échantillons ont été collectés dans l'océan Atlantique, l'océan Indien et la mer Méditerranée, couvrant une période d'immersion de 1 à 365 jours.

L'analyse de la composition des communautés fongiques a été réalisée en utilisant une approche culture-indépendante par séquençage metabarcoding ciblant deux marqueurs génétiques, la région ITS2 et la région hypervariable V4 du gène 18S de l'ARNr.

Ces analyses ont révélé une distinction et une complexité des communautés fongiques associées aux polymères plastiques par rapport à celles présentes dans l'eau de mer environnante, à l'instar des communautés bactériennes de la plastisphère par rapport à celles de la fraction libre. Des différences significatives ont également été observées entre les communautés fongiques associées aux polymères biodégradables et conventionnels, avec une richesse et une diversité plus importantes sur ces derniers, probablement en raison de leurs caractéristiques intrinsèques. Les communautés fongiques ont également présenté des différences significatives entre les sites d'échantillonnage, notamment entre les sites en haute mer (Brest, Lorient et Le Port) et un bassin semi-fermé (mer Méditerranée). De plus, pour le polymère conventionnel PVC, des stades successifs de développement et de maturation du biofilm ont été observés après une immersion prolongée dans l'eau de mer, avec un changement notable dans les communautés fongiques autour de 30 à 40 jours, suggérant une dynamique de colonisation probablement associée à une transition de la formation du biofilm vers des communautés distinctes liées au bio-encrassement. Dans l'ensemble, cette étude renforce l'idée que le règne fongique constitue une composante essentielle de la "plastisphère".







## II- Article scientifique publié dans le journal Diversity

**Philippe, A.**, Noël, C., Eyheraguibel, B., Briand, J. F., Paul-Pont, I., Ghiglione, J. F., Coton, E. & Burgaud, G. (2023). Fungal diversity and dynamics during long-term immersion of conventional and biodegradable plastics in the marine environment. *Diversity*, 15(4), 579.

## Article

# Fungal Diversity and Dynamics during Long-Term Immersion of Conventional and Biodegradable Plastics in the Marine Environment

Aurélie Philippe<sup>1</sup>, Cyril Noël<sup>2</sup> , Boris Eyheraguibel<sup>3</sup>, Jean-François Briand<sup>4</sup> , Ika Paul-Pont<sup>5</sup>, Jean-François Ghiglione<sup>6</sup>, Emmanuel Coton<sup>1</sup>  and Gaëtan Burgaud<sup>1,\*</sup> 

- <sup>1</sup> Univ Brest, INRAE, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Écologie Microbienne, F-29280 Plouzané, France; aurelie.philippe@univ-brest.fr (A.P.); emmanuel.coton@univ-brest.fr (E.C.)
- <sup>2</sup> Ifremer, IRSI, SeBiMER Service de Bioinformatique de l'Ifremer, F-29280 Plouzané, France; cyril.noel@ifremer.fr
- <sup>3</sup> CNRS, UMR 6296, Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF), Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France; boris.eyheraguibel@uca.fr
- <sup>4</sup> Laboratoire Matériaux Polymères Interfaces Environnement Marin (MAPIEM), EA 4323, Université de Toulon, France; jean-francois.briand@univ-tln.fr
- <sup>5</sup> Ifremer, CNRS, IRD, LEMAR, Univ Brest, F-29280 Plouzané, France; ika.paulpont@univ-brest.fr
- <sup>6</sup> CNRS, Laboratoire d'Océanographie Microbienne (LOMIC)/UMR 7621, Observatoire Océanologique de Banyuls, Sorbonne Université, Banyuls sur mer, France; ghiglione@obs-banyuls.fr
- \* Correspondence: gaetan.burgaud@univ-brest.fr

**Abstract:** Plastics are associated with a worldwide pollution crisis, with strong negative impacts on both terrestrial and aquatic ecosystems. In marine environments, various organisms are colonizing plastic debris, but few studies have focused on fungal communities despite their non-trivial ecological roles in the marine environment. In this study, different types of plastics (biodegradable and conventional) immersed in marine natural environments and under laboratory controlled settings were collected after long-term colonization. Using a metabarcoding approach targeting two genetic markers, namely, the ITS2 region and the V4 hypervariable region of the 18S rRNA gene, we highlighted that fungal communities associated with plastic polymers were distinct from those found in the surrounding seawater. They also differed significantly between sampling locations and the nature of immersed polymers, indicating that fungal colonization was impacted by the sites and types of plastics, with clear dissimilarities between conventional and biodegradable polymers. Specifically for the conventional PVC polymer (Polyvinyl chloride), we also observed the successive stages of biofilm development and maturation after long-term immersion in seawater. A noticeable change in the fungal communities was observed around 30–40 days in natural settings, suggesting a colonization dynamic likely associated with a transition from biofilm formation to distinct communities likely associated with biofouling. Overall, this study strengthens the idea that the fungal kingdom is an integrated part of the “plastisphere”.

**Keywords:** plastisphere; marine fungi; diversity; colonization dynamics; biodegradable vs. conventional plastics



**Citation:** Philippe, A.; Noël, C.; Eyheraguibel, B.; Briand, J.-F.; Paul-Pont, I.; Ghiglione, J.-F.; Coton, E.; Burgaud, G. Fungal Diversity and Dynamics during Long-Term Immersion of Conventional and Biodegradable Plastics in the Marine Environment. *Diversity* **2023**, *15*, 579. <https://doi.org/10.3390/d15040579>

Academic Editor: Ipek Kurtboke

Received: 21 March 2023

Revised: 14 April 2023

Accepted: 15 April 2023

Published: 20 April 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Global plastic production almost doubled from 2002 to 2020, now reaching 367 million tons per year [1]. Plastic mismanagement, estimated at around 30 million tons per year [2], generates, inter alia, plastic leakage into the natural environment. Recent studies estimated that 3–10% of annual mismanaged plastic waste ends up in the marine environment [3,4]. Marine plastic litter poses complex multifaceted issues for ecosystems, human health, the economy, and even the climate, as it affects the oceans' ability to sequester carbon [5]. Land-based sources are recognized as the main cause of marine plastic pollution, accounting for



approximately 80% of total marine debris, largely composed of single-use plastics (~50%), while sea-based sources, primarily composed of fishing gear, account for around 20% [6,7]. Plastic is now considered a marker of the Anthropocene Epoch [8], an informal unit of geological time that marks the start of human impact on geology and ecosystems, and has also led to the term “Plastic age” [9].

Microplastics (MPs), mainly resulting from the physical, chemical, and biological fragmentation of larger plastic wastes, dominate the marine plastic debris found on the ocean surface and are generally composed of conventional polymers: polyethylene (PE, ~55%), polypropylene (PP, ~15%), or polystyrene, (PS, ~10%) [10]. These polyolefins appear refractory to biodegradation because of their hydrophobic nature and high molecular weight [11]. This is also the case for PE with pro-oxidant additives (OXO), which has been shown to be poorly biodegradable, or even not biodegradable, in the marine environment [12,13]. On the other hand, biodegradable plastics, still far from replacing the global demand for conventional ones, with a global production volume of 3.8 million tons, representing ~1% of the total plastic production [14,15], do exist. These biodegradable plastics can be classified into two categories: (i) those derived from fossil resources but biodegradable under some specific conditions, such as poly(1,4-butylene adipate-co-1,4-butylene terephthalate) (PBAT) and polycaprolactone (PCL), and (ii) those bio-based, such as polylactic acid (PLA) and poly(3-Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate) (PHBV) [16,17]. PLA is efficiently decomposed under specific conditions such as industrial composting environments, requiring temperatures of >50 °C, while its biodegradation in seawater is negligible [18]. PHBV shows efficient biodegradability in the ocean, with films being completely disintegrated after 9 months in seawater [19] or with a ~90% biodegradation after 45 days [20]. Other authors have found different PHBV biodegradation rates, with the observed variations being attributed to different polymer molecular weights and/or different immersion sites (characterized by different temperatures, different microbial communities, etc.) [19]. PCL also exhibits high biodegradability in numerous environments, including the marine environment, with biodegradation rates similar to those of PHBV [21,22].

Pieces of plastic debris, either biodegradable or not, which end up in the oceans are rapidly covered by organic matter, forming an ecocorona, a unique layered structure that alters the hydrophobicity of the plastic surfaces, and which allows for microbial attachment and colonization [23–25]. Marine microbial communities colonizing marine plastic debris, known as the “plastisphere” [26], rapidly form a complex biofilm within minutes/hours [25] to 15–30 days, usually leading to a mature biofilm [27,28]. The literature on the colonization dynamic in terms of prokaryotic communities fluctuates with research studies highlighting Alphaproteobacteria at early stages and Gammaproteobacteria at later ones [23], while others revealed an opposite trend [29,30]. Recently, Latva et al. (2022) [25] detected the importance of the Bacteroidetes as a pioneering phylum (min/h), then outreached by Gammaproteobacteria, and later by Alphaproteobacteria. A recent meta-analysis of 35 studies specifically targeting conventional plastic matrices clearly demonstrated that environmental variables, rather than polymer type, appear as key factors affecting the prokaryotic composition of the plastisphere [31].

The microeukaryotic component of the plastisphere has been largely overlooked to date. Most metabarcoding studies targeting microeukaryotes have targeted the V4, V7, or V9 regions of the 18S rRNA gene and highlighted the occurrence of diatoms (Stramenopiles) as early colonizers, while high occurrence of dinoflagellates (Alveolata), algal species, and even metazoan taxa represent a significant fraction of the eukaryotic communities [26,32–36]. Still, co-occurrence networking analysis suggests that microeukaryotes play a limited role in the mature biofilm compared to bacteria [34]. Kettner et al. (2017) [37] targeted the V4 region of the 18S rRNA gene to assess the relative part of fungal contribution to microeukaryotic communities. Around 1/5th of all taxa was affiliated with the fungal kingdom and, more precisely, to the Ascomycota, Basidiomycota, and Chytridiomycota phyla, differing from fungal communities in the surrounding water, among sampling sites and polymer types. Other studies targeting the ITS2 genetic marker (i.e., [38]) detected mainly

Ascomycota and Basidiomycota on PE samples without specific shifts, either temporal or geographical, in community composition. Using conventional plastic samples collected from surface waters of the western South Atlantic and Antarctic Peninsula, Lacerda et al. (2020) [39] highlighted similar trends in terms of community composition, with dominance of Ascomycota and Basidiomycota, and no distinct geographical differences. However, there is still a scientific gap for marine fungal communities associated with biodegradable plastics. As the bacterial and fungal abundance and diversity vary greatly between conventional and biodegradable plastics under terrestrial conditions [40], it is possible to hypothesize that the architecture of fungal communities will also differ in the marine environment, as it was likewise proven for marine bacterial communities (e.g., [18,41]).

Culture-based approaches have also been used to delve deeper into the colonization of plastics by fungi, with recent results supporting some molecular-based data showing two thirds ascomycetes and one third basidiomycetes, with some taxa being different compared to sediment fungal communities [42]. The latter study also highlighted the biodegradation potential of the fungal plastisphere, with some detected taxa already known as able to biodegrade plastic polymers (e.g., PE and polyurethane, PU). To date, certain marine fungal isolates appear able to efficiently degrade plastics, such as, for example, *Zalerion maritimum* ATCC34329 [43] or *Alternaria alternata* FBI [44] on PE.

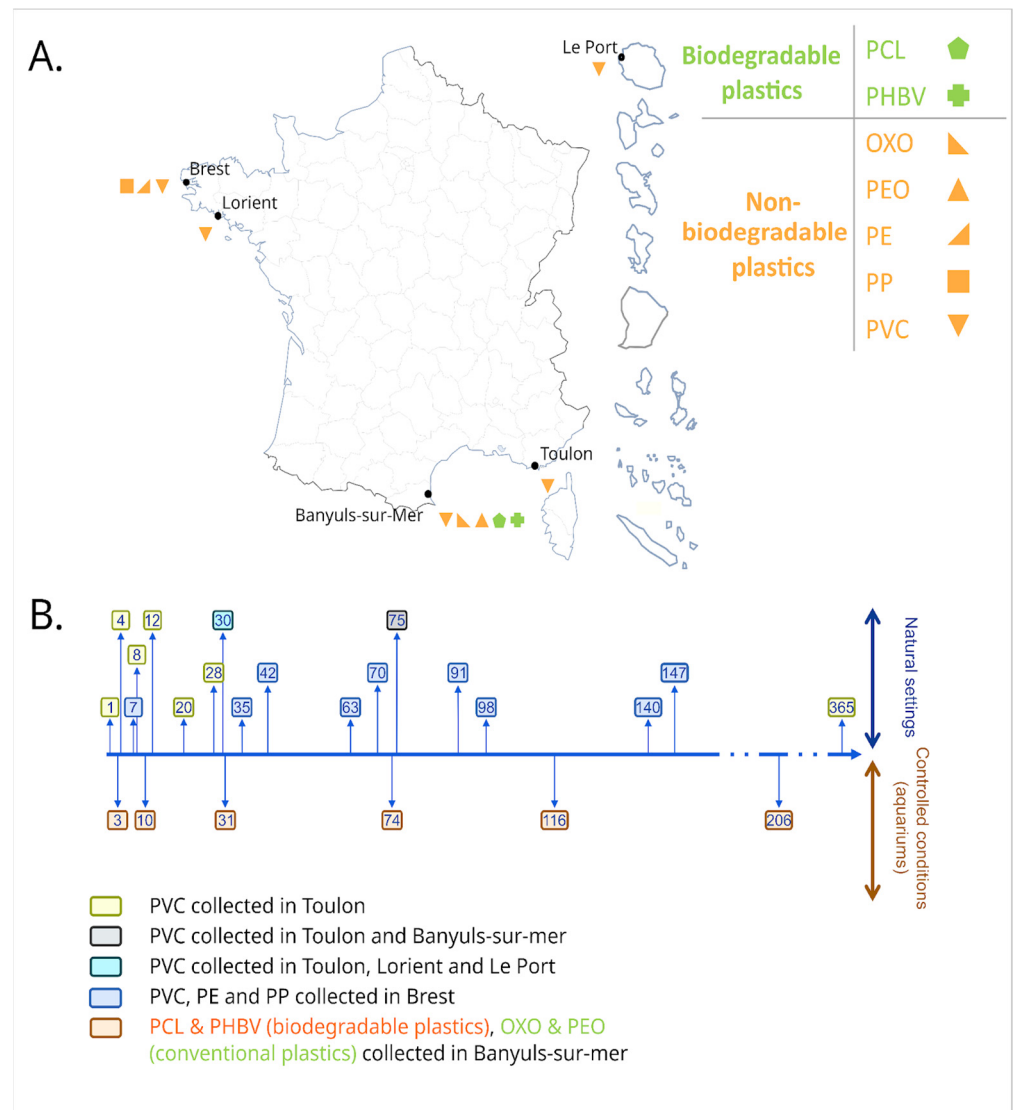
In this study, our aim was to characterize the fungal communities associated with different plastics polymers in various marine environments using a multi-marker metabarcoding approach targeting the ITS2 region and the V4 hypervariable region of the 18S rRNA gene. We intend to better understand the influence of (i) plastic type (i.e., conventional—PE, aged PE (PEO), OXO, PP, and PVC—vs. biodegradable—PCL and PHBV—polymers), (ii) geographical location (Atlantic ocean, Indian ocean, Mediterranean Sea), and (iii) immersion time (from 1 to 365 days) on fungal colonization dynamics.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Sample Collection

Two types of plastic material immersions were performed. The first type corresponded to immersion in natural settings in several French coasts (i) in the Toulon (43°06'25" N; 5°55'41" E), and the Banyuls-sur-Mer (42°29'300" N; 3°08'700" E) bays in the north-western Mediterranean Sea, (ii) in the bay of Lorient (Kernevel Harbor, 47°43'8.0178" N; 3°22'7.2048" W) along the south coast of Brittany, (iii) in the bay of Brest (Pointe du Château; 48°20'06.19" N, 4°19'06.37" W) in the Atlantic Ocean, and (iv) in the Reunion Island (Le Port, 20°56'03" S, 55°17'0.6" E) in the Indian Ocean (complementary information described in [29,45,46] (Figure 1A, and Supplementary Table S1). The second type corresponded to immersion in controlled conditions in aquariums in the dark, with direct circulation to the sea by pumping seawater from 30 m from the coast and 4 m deep in the Banyuls Bay (complementary information described in Odobel et al. 2021 [47]) (Figure 1A). Depending on the site, various polymers among PVC (as panels), PE, PP, PEO, OXO, PCL, and PHBV (as polymer films), were incubated for specific durations with various sampling times (Figure 1B).

As a special note, the experimental design for plastic immersion in the Bay of Brest also integrated the effect of different tidal regimes on microbial colonization, as detailed in Lemonnier et al. (2022) [46]. Briefly, PE, PP, and PVC pellets were deployed in clean nylon mesh bags at different tidal positions in the Bay of Brest in order to test the influence of two parameters on microbial community composition: (i) the position in the foreshore (subtidal versus. intertidal, the latter being influenced by regular cycles of immersion and emersion) and the position in the water column (water column versus water–sediment interface).



**Figure 1.** (A) Map of France and French territories presenting the sampling locations and the studied plastic types. (B) Timeline representing incubation times (days) for the different studied plastic types with the corresponding immersion methods. Meaning of polymer acronyms: PCL (Polycaprolactone), PHBV (Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)), OXO (Oxodegradable-Polyethylene), PEO (Oxidized Polyethylene), PE (Polyethylene), PP (Polypropylene), and PVC (Polyvinyl chloride).

### 2.2. DNA Extraction, Amplification and Sequencing

DNA extraction was performed from both the polymers and surrounding seawater (as reference) at all sampling times using (i) the PowerBiofilm DNA isolation kit (Qiagen, Courtaboeuf, France) for Toulon, Banyuls-sur-mer, Lorient, and Le Port PVC samples, as detailed in Catao et al. (2021) [45] or (ii) a phenol-chloroform extraction method for polymers immersed in the Bay of Brest, as detailed in Lemonnier et al. (2022) [46], and those incubated in an aquarium with direct seawater circulation from the Banyuls Bay, as detailed in Odobel et al. (2021) [47]. DNA extracts were used as template for individual semi-nested PCR amplification of either the ITS2 rRNA region or the V4 region of the 18S rRNA gene. Fungal ITS2 region amplicons were generated using the 5.8S-Fun (5'-AACTTTYRRC AAYGGATCWCT-3') and ITS4-Fun (5'-AGCCTCCGCTTATTGATAT-GCTTAART-3') primers and customized thermocycling parameters [48] after a first PCR amplification using the fungal-specific primer ITS1f (5'-CTGTGTCATTAGAGGAAGTAA-3') and the general primer ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). A similar strategy

was used to generate fungal 18S amplicons using a semi-nested PCR approach with the use of primers nu-ssu-0817 (5'-TTAGCATGGAATAATRRRAATAGGA-3') and nu-ssu-1536 (5'-TCTGGACCTGGTGAGTTTCC-3') for the first PCR and nu-ssu-0817 (5'-TTAGCATGG AATAATRRRAATAGGA-3') and nu-ssu-1196 (5'-TCTGGACCTGGTGAGTTTCC-3') [49] for the second amplification following customized parameters [50]. PCR products were visualized by agarose gel electrophoresis and iTAG sequenced at Eurofins Genomics using Illumina MiSeq PE300 chemistry.

### 2.3. Bioinformatics and Statistical Analyses

Raw data were analyzed with the SAMBA V3.0.1 workflow (<https://github.com/ifremer-bioinformatics/samba>, accessed on 4 March 2023) [51], a standardized and automated metabarcoding analysis tool developed by the Ifremer Bioinformatics Department (SeBiMER). SAMBA was developed using the NextFlow workflow manager [52] and consists of three main parts: data integrity checking, bioinformatics processes, and statistical analyses. This workflow uses QIIME 2 [53] and DADA2 (Divisive Amplicon Denoising Algorithm) [54] with default parameters (unless indicated) and was processed here to analyze the generated ITS2 and the V4 region of the 18S fungal iTags. Raw data were first filtered (primer removal, removal of reads with incomplete or incorrect primer sequences) using Cutadapt [55]. The ASV (Amplicon Sequence Variants) clustering method was then applied using DADA2 [54] following a four steps approach: filtering (quality, sequencing error correction), pairwise read merging, inference of sample ASVs, and chimera identification. The first stage assesses the quality of the data and executes quality filtering by cutting the endpoints of the reads in order to obtain the highest percentage of data in the samples. As the iTag datasets were sequenced in numerous runs, including ITS2 and 18S runs, an optimization step was performed to determine the best threshold (in terms of length of read trimming) for each run (Supplementary data). To counteract the known overestimation of diversity generated by DADA2, a complementary step of ASV clustering was performed using dbOTU3 [56]. The generated ASVs were then taxonomically assigned using a Naive Bayesian method against the SILVA V138 [57] and UNITE V8 [58] databases. As suggested by McMurdie et al. (2014) [59], the DESeq2 method [60] was chosen as another data normalization alternative to rarefaction. Additionally, the statistical framework called ANalysis of COMposition of Microbiomes ANCOM was used for the comparison of the microbiome composition [61]. The R phyloseq object generated by the SAMBA workflow was used for all diversity analyses. The alpha diversity, for intraspecific diversity comparisons, was investigated using four indices: Chao1, Shannon, Simpson's inverse, and Pielou. Bubble plots were performed using R software version 3.6.1 (ggplot2 package) and used to depict the taxonomic assignment of ASVs at the phylum and genus levels. An interspecific comparison of samples was also performed as part of the beta diversity analysis using an ordination analysis (i.e., Principal Coordinate Analysis -PCoA-) and a hierarchical ascendant classification analysis.

## 3. Results

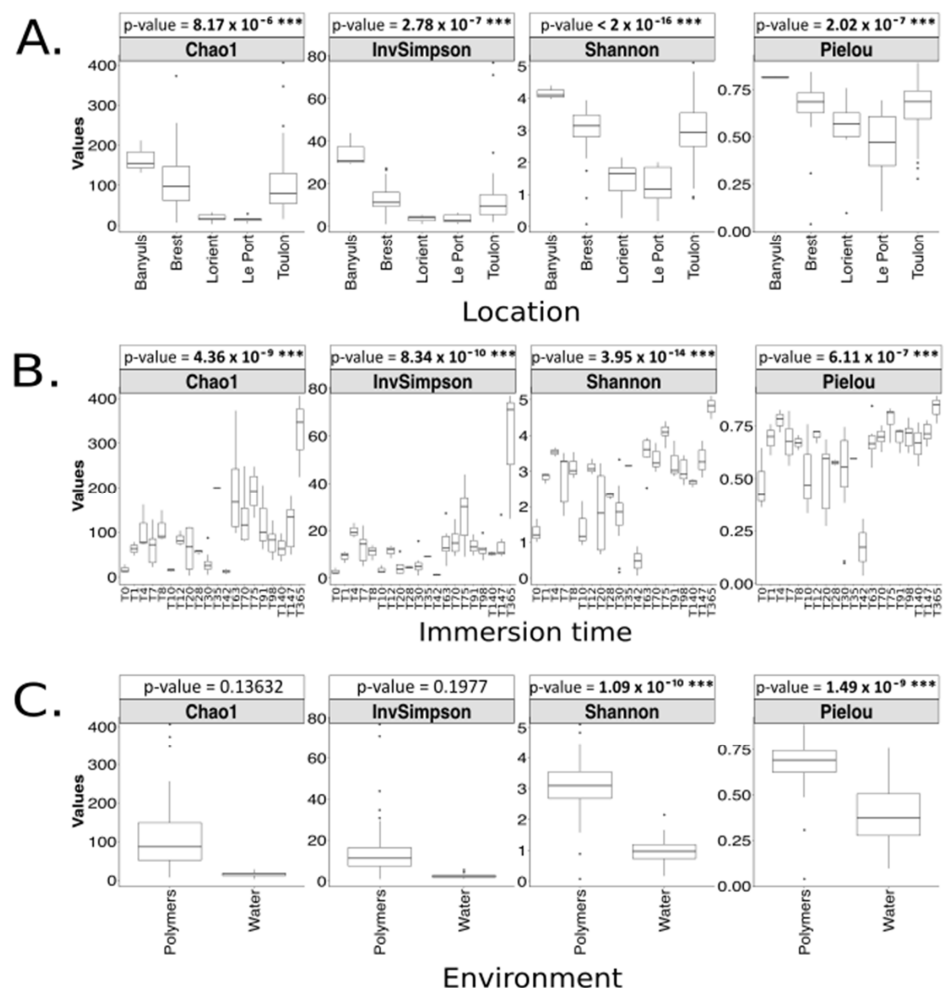
### 3.1. Long-Term Immersion of PVC in Natural Settings

The following results were obtained for a single type of polymer, namely PVC, that was immersed under natural conditions in different marine environments for a duration of up to one year. The fungal communities, as revealed by ITS2 and the V4 region of the 18S genetic markers, were found to be more diverse on plastic compared to those in the surrounding seawater and were mainly structured by the geographic location.

For the 48 studied PVC samples (panels and pellets), Illumina Miseq DNA sequencing generated 7,779,430 matched sequences for ITS2 and 1,667,500 for the V4 region of the 18S rRNA gene. The ITS2 data set contained 3954 fungal ASVs, while the V4 region of the 18S data set contained only 769 fungal ASVs.

### 3.1.1. Analysis Based on the ITS2 Dataset

The alpha diversity was measured using the Chao1, Pielou, Shannon, and Simpson indices (Supplementary Table S2). Among all evaluated factors, 'Location' (Toulon, Banyuls-sur-mer, Lorient, Brest, and Le Port), 'Incubation time' (from 1 to 365 days) and 'Environment' (plastic vs. seawater), the first two were very highly significant for all diversity indices (Figure 2A,B). For the Shannon and Pielou indices (Figure 2C), the 'Environment' variable indicated a significant difference, distinguishing free fungal populations in seawater from those linked to plastics (only 38 ASVs in common between the plastic-associated communities and the free living ones, meaning ~1% of the total ASVs). Lower index values were observed in the surrounding seawater samples (108 unique ASVs, representing less than 3% of the total ASVs) compared to the plastic samples (3808 unique ASVs), indicating a lower diversity and equitability of fungal communities in seawater compared to plastic-associated ones. Banyuls-sur-mer had the highest diversity of fungal communities, followed by Brest, Toulon, Lorient, and Le Port (Figure 2A). Toulon and Banyuls-sur-Mer, both in the Mediterranean Sea, presented the highest number of shared ASVs ( $n = 95$ ), with other locations having less than 55 ASVs in common.



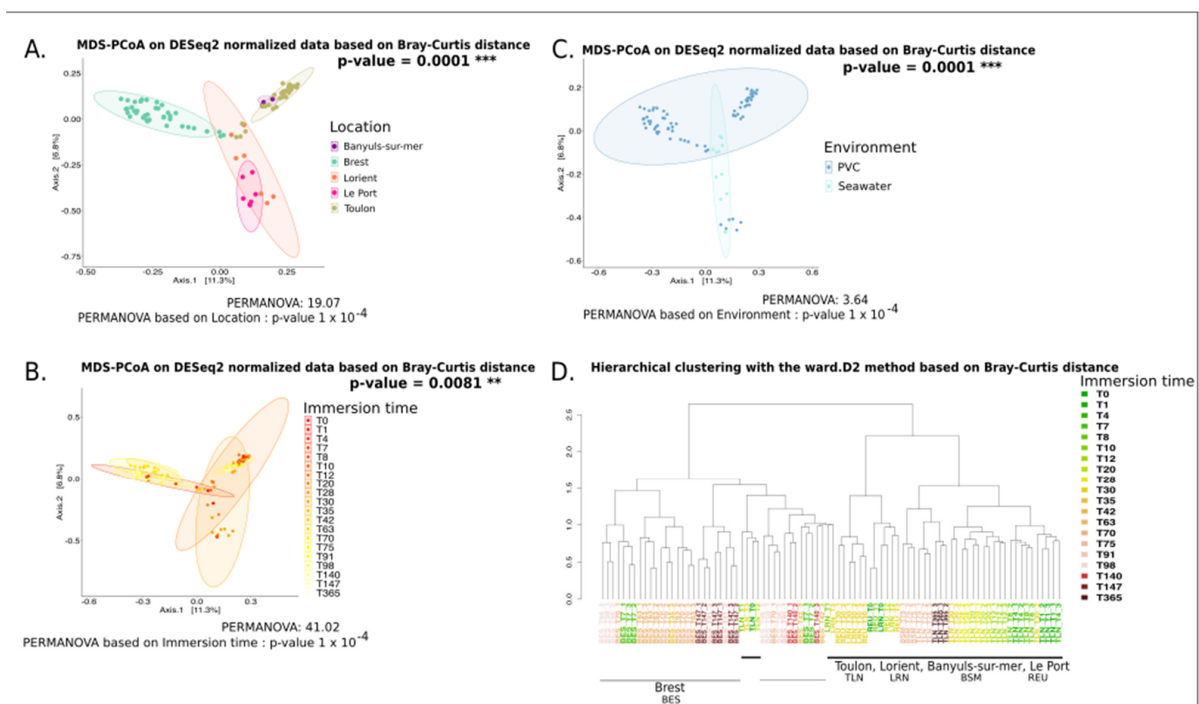
**Figure 2.** Alpha diversity indices and their associated significance, based on the ITS2 dataset for the variables (A) "Location", (B) "Immersion time" (days), and (C) "Environment". "\*\*\*\*" represents a very highly significant influence of the evaluated factor.

Immersion time also affected the richness and diversity of fungal communities. A sinusoidal-like trend can be observed on Figure 2B with increasing diversity values from 0 to 7 days, followed by a reduction from 8 to 30 days and then an increasing amplitude, with accentuated crest values at days 75 and 365. The highest number of shared ASVs



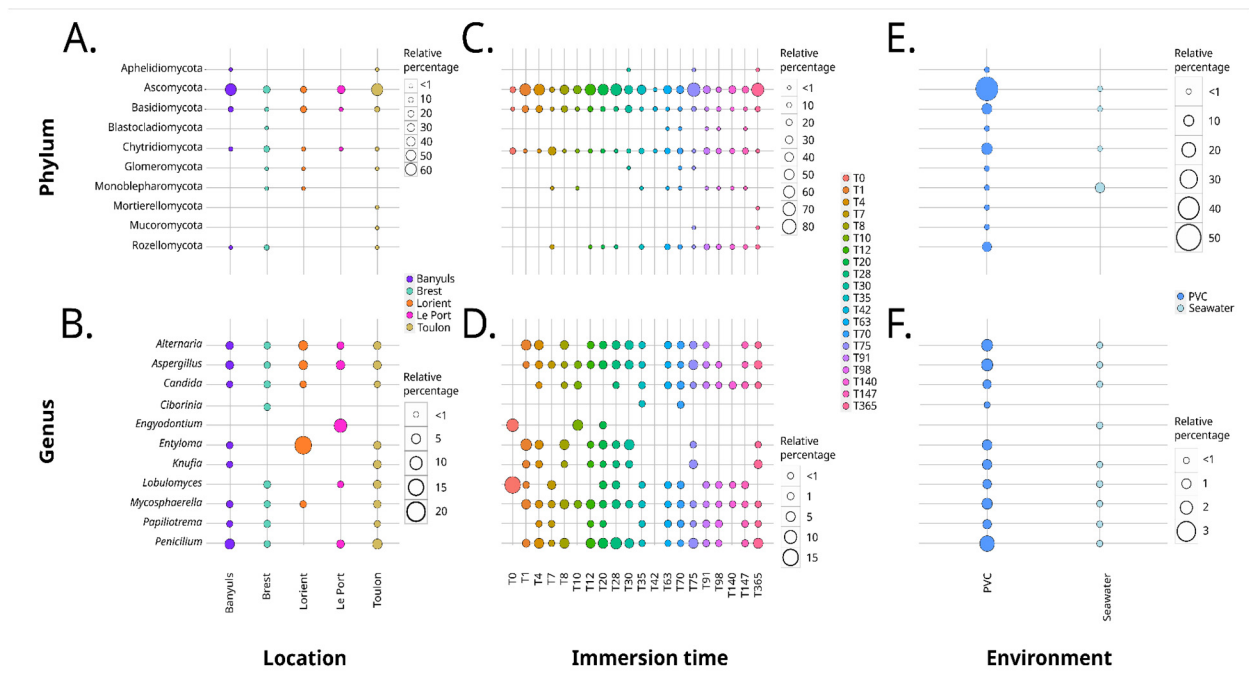
throughout the different immersion durations was only found at later immersion stages, i.e., between days 75 and 365 (77 ASVs shared), followed by days 63 and 70 (52 ASVs shared) and days 91 and 147 (51 ASVs in common), suggesting a putative stabilization of fungal communities attached to PVC after several weeks of immersion.

For beta diversity, the three factors ‘Location’ ( $p$ -value = 0.0001), ‘Incubation time’ ( $p$ -value = 0.0001), and ‘Environment’ ( $p$ -value = 0.0081) showed highly significant differences between samples (Figure 3). For the ‘Location’ variable, explaining 11% of the variation, samples collected in Brest, Lorient, and Le Port differed from those collected in Banyuls-sur-Mer and Toulon (Figure 3A). As a result, fungal communities from the Atlantic/Indian Ocean (Lorient, Brest/Le Port) and the Mediterranean Sea (Toulon and Banyuls-sur-mer) differed significantly. Furthermore, the communities sampled in the Atlantic Ocean also differed between Brest and Lorient. For the ‘Immersion duration’ variable, explaining 27.6% of the variation, normalized PCoA and hierarchical clustering (Figure 3B,D) showed that there was also a distinction between the time point samples, in addition to the differentiation by location. Indeed, for the location with the highest number of time points, i.e., Toulon (9 time point samples from 1 to 365 days), a colonization dynamic was observed with a clear dissimilarity between fungal communities from 1 to 30 days compared to 75 and 365 days. Regarding PVC samples immersed in Brest (8 time point samples from 7 to 147 days), no such trend was observed, suggesting that different immersion conditions (immersion site influenced by tide in Brest site contrary to Toulon) affect the colonization dynamic and unbalance the architecture of fungal communities. According to DESeq2, normalized PCoA based on Bray–Curtis dissimilarities for the ‘Environment’ variable (Figure 3C), representing 1.6% of the variation, samples taken from polymers differed from those retrieved from surrounding seawater.



**Figure 3.** Principal Coordinate Analysis (PCoA) of the similarity in fungal community composition, based on the ITS2 dataset, showing the relationship between the variables “Location” (A), “Immersion time” (days), (B) and “Environment” (C), and the significance of each variable. (D) Hierarchical clustering of the samples based on the variable “Incubation time”. “\*\*\*” and “\*\*\*\*” represent a highly and a very highly significant influence of the evaluated factor, respectively. The PCoA was generated using Bray–Curtis dissimilarity as the distance measure, with each point representing a sample. Ellipses connect groups of samples that were subjected to the same conditions.

A bubble plot for the ‘Location’ variable was used to display taxonomic diversity at the phylum and genus levels (Figure 4A,B). Ascomycota, Chytridiomycota and Basidiomycota were present in all sites, albeit at different proportions. Ascomycota was the most common phylum in Toulon (60.6%), Banyuls-sur-Mer (58.5%), followed by Le Port (32%), Brest (26.5%) and Lorient (20%). ASVs affiliated with the Basidiomycota phylum accounted for 20.4% of the community in Le Port, 13.7% in Banyuls-sur-Mer, 13.4% in Toulon, and 4.7% in Brest and Le Port. Brest had the highest concentrations of ASVs identified as Chytridiomycota (18.1%) and Rozellomycota (11.1%). ASVs affiliated with the phylum Chytridiomycota accounted for 5.1% of the fungal population in Lorient, 4.8% in Banyuls-sur-Mer, 3.8% in Le Port, and 3.5% in Toulon. All taxa appeared distributed unevenly between sites (Figure 4A). Brest had the highest diversity (52.1%), followed by Toulon (39.2%), Banyuls-sur-mer (5.6%), Lorient (1.6%), and Le Port (1.5%).



**Figure 4.** Bubble-plot representing the proportions of phyla or genus, based on the ITS2 dataset, according to the variables (A,B) “Location”. (C,D) “Immersion time” (days). (E,F) “Environment”. The listed genera correspond to the 10 most abundant genera, also containing 2 genera identified as differentially abundant using ANCOM (*Alternaria* and *Engyodontium*), and one extra genus that was also highlighted by ANCOM (*Ciborinia*).

*Alternaria* appeared to be the most ubiquitous taxon based on its detection in all sites, albeit at different proportions in Lorient (4.5%), followed by Banyuls-sur-Mer (2.2%), Toulon (2.2%), Le Port (1.7%), and Brest (0.9%). ASVs affiliated with *Penicillium* (5.1%), *Aspergillus* (2.9%), *Knufia* (2.6%), *Alternaria* (2.2%), *Mycosphaerella* (2%), *Entyloma* (2%), *Lobulomyces* (0.6%), *Papiliotrema* (0.3%), and *Candida* (0.2%) were mostly retrieved in Toulon. Banyuls-sur-Mer had the same composition but different abundances, with the exception of *Lobulomyces* (Figure 4B). For this site, *Penicillium* (5.4%) was the most common genus, followed by *Aspergillus* (2.8%), *Alternaria* (2.2%), *Entyloma* (0.9%), *Mycosphaerella* (0.9%), *Candida* (0.4%), *Knufia* (0.3%), and *Papiliotrema* (0.2%). *Entyloma* was the most common genus (16.1%) in Lorient. *Engyodontium* was exclusively found in Le Port (10.1%). For this site, *Aspergillus* and *Penicillium* were retrieved at close proportions, i.e., 3.9% and 2.5% respectively. At the genus level, Brest was dominated by *Lobulomyces* (1.4%), *Papiliotrema* (1.2%), *Candida* (1.0%), *Alternaria* (0.9%), *Mycosphaerella* (0.8%), *Penicillium* (0.5%), and *Aspergillus* (0.4%).

The Ascomycota phylum was present at all immersion times, with a higher relative abundance proportion of ASVs at 75 (70.2%) and 365 (67.4%), then at days 1 (57.3%), 4

(53.3%), 12 (52.7%), 20 (52.8%), and 28 (56.5%), and thus was globally consistent with the crests of the sinusoidal-like trend that was previously highlighted (Figure 4C). The Basidiomycota phylum was present at all immersion times, with higher abundance at days 1 (23.2%), 4 (23.9%), and 8 (21.4%), as was the Chytridiomycota phylum, but with lower abundance from days 0 to 30 (mean = 8.6% and median = 4.9%) and higher abundance from days 35 to 365 (mean = 12.2 and median = 14%). Despite low abundance during the first days of immersion (until 30 days of immersion), the Monoblepharomycota and Rozellomycota phyla were mostly present in the latter stages, from 35 to 365 days of immersion. Blastocladiomycota were exclusively found at days 63, 70, 91, 98, and 147. The Aphelidiomycota and Glomeromycota phyla were only present at days 30 and 75, respectively, and 70 for Glomeromycota and 365 for Aphelidiomycota. Mucoromycota were present at days 75 and 365, while Mortierellomycota were present only at the end of the immersion period (365 days). Two genera were identified as differentially abundant based on immersion times using ANCOM. The first is the genus *Alternaria*, which was more prevalent during the early stages of colonization (mean from days 0 to 30 = 2.3% vs. mean from days 35 to 365 = 0.8%) (Figure 4D). The second genus is *Ciborinia*, which was only found at days 35 (1.0%) and 70 (0.2%). *Penicillium citrinum* was observed at days 75 and 365, whereas *Chaetomium globosum* was identified at days 12 and 365. *Aureobasidium pullulans* was detected at various times (days 0 to 4, then from 8 to 35, followed by days 63 to 75, and day 365).

According to the 'Environment' variable (i.e., PVC vs. surrounding seawater), all phyla showed a contrasting proportion (Figure 4E). Ascomycota accounted for more than a one-third of the overall diversity (41.6%), with a relative proportion on plastic of 42% and in surrounding seawater of 0.3%. The Chytridiomycota phylum followed, with a total diversity of more than 11.2%, found mainly on plastics (11.2%) rather than in surrounding saltwater (0.1%). The Basidiomycota phylum, which accounted for 8.8% of the global diversity, had a higher relative proportion on plastics (8.9%) than in seawater (0.04%). Rozellomycota (7.1%), Blastocladiomycota (0.1%), Mucoromycota (0.1%), Aphelidiomycota (0.04%), Glomeromycota (0.03%), and Mortierellomycota (0.01%) were identified solely on plastics and with low relative abundance.

The *Penicillium* (2.6% vs. 0.03%), *Alternaria* (1.5% vs. 0.01%), *Aspergillus* (1.6% vs. 0.004%), *Knufia* (1.0% vs. 0.01%), and *Mycosphaerella* (1.3% vs. 0.01%) genera were all found in higher abundance on PVC compared to the surrounding seawaters (Figure 4F). The *Entyloma* genus was identified only on plastics (1.1%). On the other hand, the *Engyodontium* genus, on the basis of ANCOM, was identified as a differentially abundant taxon and was exclusively abundant in the surrounding seawater (0.1%). At the species level, *Aureobasidium pullulans*, *Chaetomium globosum*, and *Penicillium citrinum* were detected as almost exclusively associated with PVC.

Data on environmental variables (temperature, pH, and salinity) were all available for Banyuls-sur-Mer, Lorient, Le Port, and Toulon. Using this dataset, the 'Temperature' variable indicated a significant difference across samples in terms of beta diversity visualization ( $p$ -value = 0.0001) (Supplementary Figure S1). For the Brest location, for which only the environmental variable "Temperature" was available, the Shannon index was exclusively significant ( $p$ -value = 0.000169).

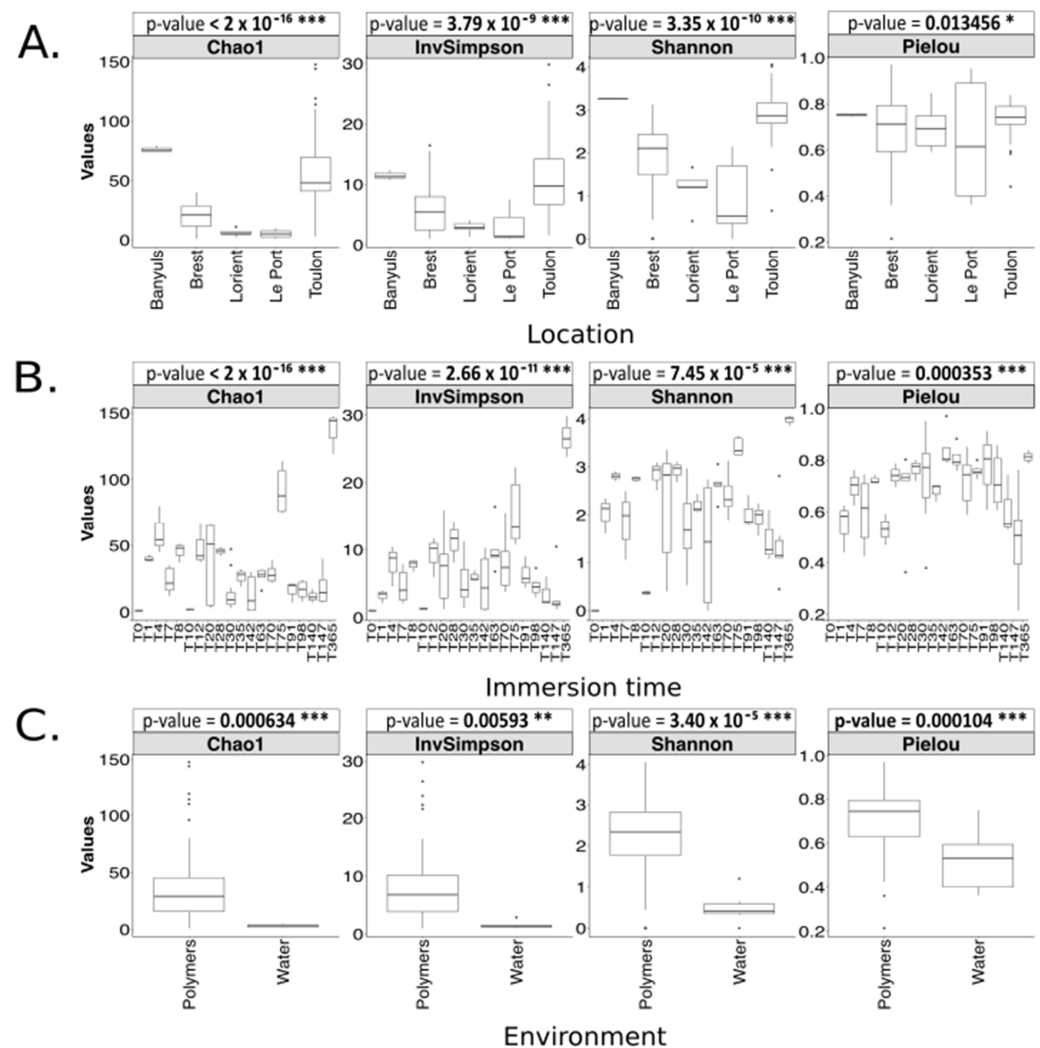
Additionally, for the Brest location, beyond PVC, PE, and PP were also immersed, but no difference was observed between these three conventional plastic polymers in terms of alpha and beta diversity (Supplementary Figure S2A,B), suggesting that in the tested conditions, the type of plastic matrix had a negligible impact on fungal colonization. Interestingly, the fungal community composition on plastic pellets was significantly influenced by the tidal regimes. As shown in Supplementary Figure S2C,D, fungal communities associated with PVC pellets deployed in the intertidal area and height-positioned (water column), which were thus strongly influenced by fluctuations in temperature, UV radiation, and desiccation, differed from those associated with plastic pellets deployed in subtidal areas or intertidal areas but maintained in the seawater-sediment interface.



### 3.1.2. Analysis Based on the V4 Region of the 18S rRNA Gene

Results generated using this genetic marker were largely consistent with those related to the ITS2, with significant effects of location, environment, and immersion time on alpha and beta diversity. Detailed results developed below highlight slight difference, mainly due to the smaller number of total fungal ASVs obtained using the V4 region of the 18S rRNA gene data set (769 ASVs compared to the 3954 ASVs for ITS2).

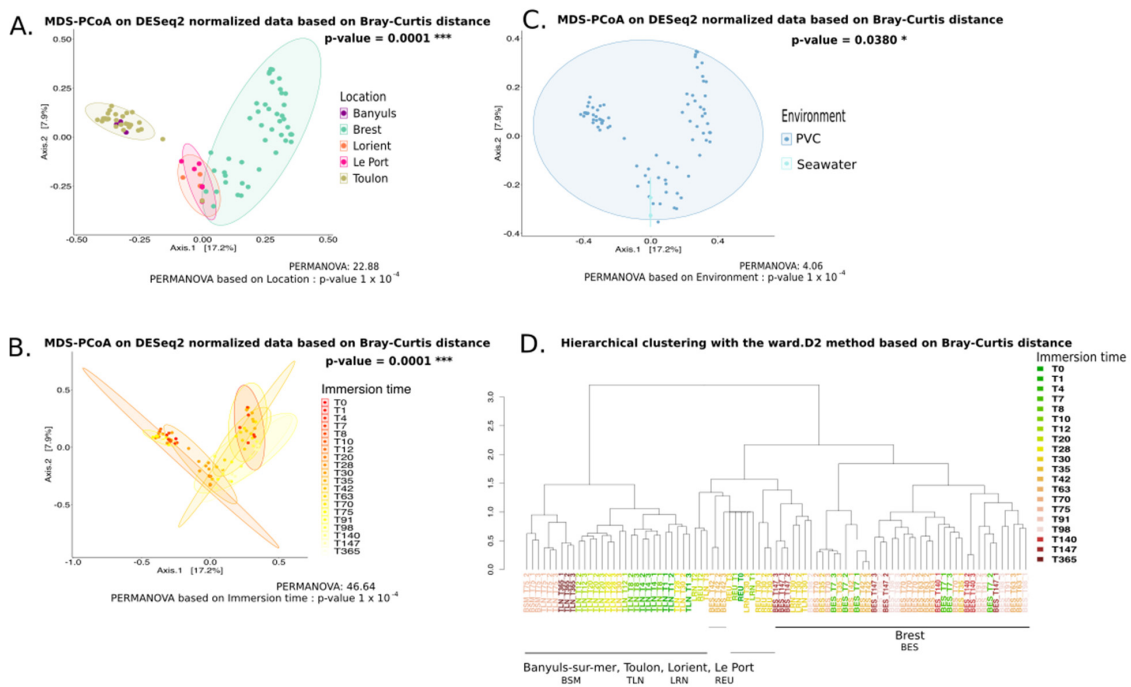
The Chao1, Pielou, Shannon, and Simpson indices were used to calculate alpha diversity (Supplementary Table S3). All diversity indices were very highly significant for the ‘Location’ (Toulon, Banyuls-sur-mer, Lorient, Brest, and Le Port), ‘Incubation time’ (from days 1 to 365), and ‘Environment’ (plastic vs. surrounding seawater) variables (Figure 5). Banyuls-sur-mer showed the greatest richness, followed by Toulon, Brest, Lorient, and Le Port. This trend aligns with the results from the ITS2 analysis, albeit that Toulon presented in this case higher richness than Brest, a difference that may be attributed to the smaller number of total fungal ASVs obtained in the 18S data set, as shown in Figure 5A. Indeed, the fact that the V4 region of the 18S rRNA gene data set generated 5 times fewer ASVs compared to the ITS2 data set may have resulted in lower representation of some specific ASVs.



**Figure 5.** Alpha diversity indices and their associated significance, based on the V4 region of the 18S rRNA gene dataset for the variables (A) “Location”, (B) “Immersion time”, (days) and (C) “Environment”. “\*”, “\*\*”, and “\*\*\*” represent a significant, highly significant, and very highly significant influence of the evaluated factor, respectively.

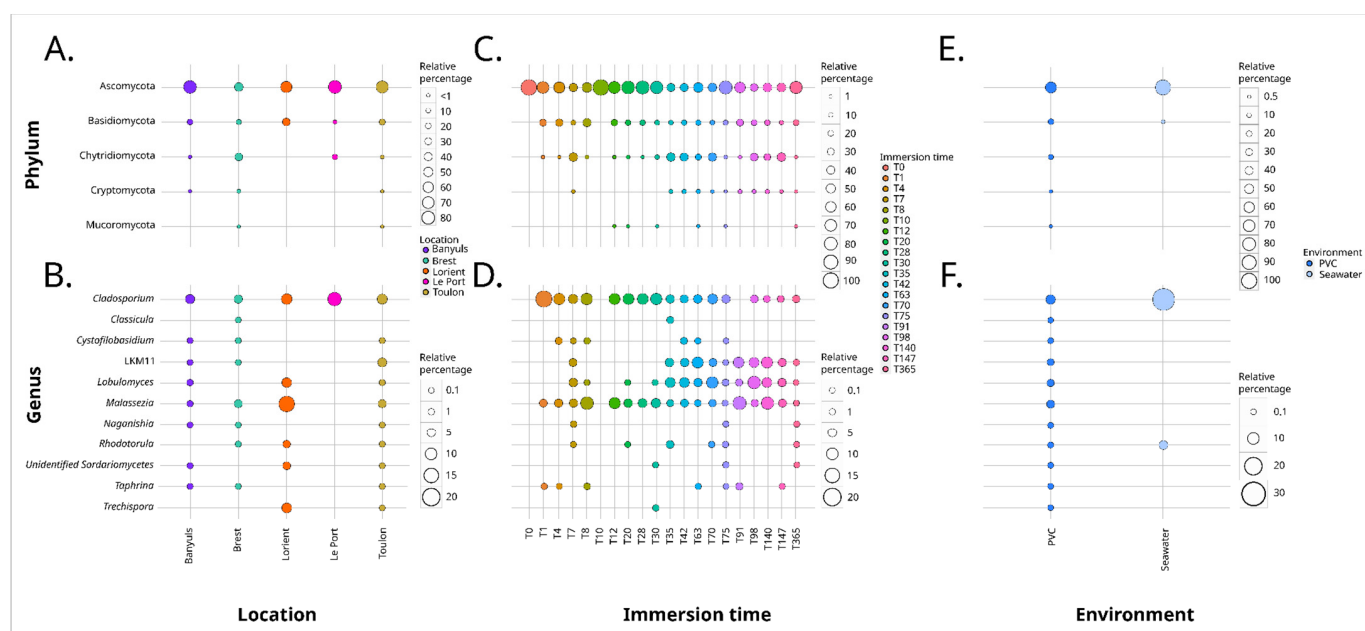
Toulon and Banyuls-sur-Mer, both in the Mediterranean Sea, presented the highest number of common ASVs ( $n = 77$ ). The other sites had fewer than 30 ASVs in common, consistent with the ITS2 dataset. The period of immersion also influenced the diversity of fungal populations, as shown in Figure 5B, showing a similar sinusoidal trend as obtained with the ITS2 dataset, albeit less pronounced. The highest number of shared ASVs was found at the later stages of immersion, i.e., between days 75 and 365 (24 shared ASVs), but also between days 4 to 8 (11 shared ASVs), indicating an early colonization and then a putative stabilization of the fungal communities associated with PVC after several weeks of immersion, as detected for the ITS dataset. The ‘Environment’ variable revealed a significant difference, distinguishing free fungal populations in seawater from those linked with plastics (Figure 5C). Interestingly, no ASV was shared by the polymer-related and the so-called free-living communities. The diversity indices were lower in the surrounding seawater samples (18 unique ASVs) compared to the plastic samples (751 unique ASVs), indicating that fungal communities in seawater were less diverse and unequal than those associated with PVC.

In terms of beta diversity, the ‘Location’ ( $p$ -value = 0.0001) and ‘Incubation time’ ( $p$ -value = 0.0001) variables were very highly significant, and the ‘Environment’ variable to a lesser degree ( $p$ -value = 0.0380) (Figure 6). Samples collected in Brest, Lorient, and Le Port appeared different from those collected in Banyuls-sur-Mer and Toulon for the ‘Location’ variable, which explained 19% of the variation (Figure 6A). As a result, the fungal communities in the Atlantic/Indian Ocean (Lorient, Brest/Le Port) and the Mediterranean Sea (Toulon and Banyuls-sur-mer) differed greatly, which is consistent with the ITS2 dataset. Samples collected from plastics differed from those obtained from the surrounding seawater, according to the DESeq 2 standardized PCoA based on Bray–Curtis dissimilarities for the ‘Environment’ variable (Figure 6C), accounting for 1.4% of the variation.



**Figure 6.** Principal Coordinate Analysis (PCoA) of the similarity in fungal community composition, based on the V4 region of the 18S rRNA gene dataset, showing the relationship between the variables “Location” (A), “Immersion time” (days), (B) and “Environment” (C), and the significance of each variable. (D) Hierarchical clustering of the samples based on the variable “Incubation time”. “\*”, and “\*\*\*” represent a significant, and a very highly significant influence of the evaluated factor, respectively. The PCoA was generated using Bray–Curtis dissimilarity as the distance measure, with each point representing a sample. Ellipses connect groups of samples that were subjected to the same conditions.

To represent the taxonomic diversity at the phylum and genus levels, a bubble plot for the variable ‘Location’ was created (Figure 7). Although both ASVs affiliated with the phyla Ascomycota and Basidiomycota were found, only those affiliated with Ascomycota predominated at each location (Figure 7A). Ascomycota accounted for 77.4% of the population in Le Port, 76.9% in Banyuls-sur-Mer, 71.9% in Toulon, 64.4% in Lorient, and 43.0% in Brest. Lorient (35.6%), Toulon (22.1%), Banyuls-sur-mer (19.7%), Brest (15.2%), and Le Port (5.5%) had the highest concentrations of Basidiomycota. Chytridiomycota, which was absent in Lorient, and made up 36.3% of the population in Brest, 17.0% in Le Port, 4.5% in Toulon, and 3.1% in Banyuls-sur-Mer. Mucoromycota was only found in Toulon (0.8%) and Brest (0.1%), while Cryptomycota was detected in Brest (5.5%), Banyuls-sur-mer (0.4%), and Toulon (0.3%). Using ANCOM, the genera *Lobulomyces*, LKM11, and *Cladosporium* were identified as differentially abundant taxa, indicating their significant abundance in at least one location (Figure 7B). Consistent with results generated using the ITS2 dataset, taxa appeared irregularly distributed among locations, with Toulon accounting for 58.1% of the whole taxa, followed by Brest (32.1%), Banyuls-sur-Mer (7.6%), Le Port (1.1%), and Lorient (1.0%).



**Figure 7.** Bubble-plot representing the proportions of phyla or genus according to the variables (A,B) Location, (C,D) “Immersion time” (days), and (E,F) “Environment”. The listed genera correspond to the nine most abundant genera, also containing three genera identified as differentially abundant using ANCOM (*Cladosporium*, LKM11 and *Lobulomyces*), and two extra genera that were also highlighted by ANCOM (*Cystofilobasidium* and *Naganishia*).

At all immersion times, the phylum Ascomycota was present (Figure 7C), with a higher relative abundance between days 1 and 30 (mean of 72.2%) compared to days 35 to 365 (mean of 50.6%). The Basidiomycota phylum, although absent at days 0 and 10, was present in comparable proportions from day 1 to 30 (mean of 19.4%), and days 35 to 365 (mean of 17.3%). The Mucoromycota phylum was only present in low abundance at several incubation times (days 12, 20, 30, 63, 75, with a mean of 0.6%), but accounted for 1.0% and 1.5% of the relative abundance at days 75 and 365, respectively, consistent with the ITS2 data set. The Cryptomycota phylum was mainly present from days 35 to 365 (mean of 5.2%), with only a presence at day 7 (4.1%) in the early incubation stage. The Chytridiomycota phylum was also prevalent in the late immersion times (days 35 to 365), with a mean relative abundance of 26.6%.

On the basis of ANCOM, the *Lobulomyces*, *Cladosporium*, *Cystofilobasidium*, and *Naganishia* genera and the environmental clade LKM11 were identified as differentially abundant taxa, showing that these genera are significantly abundant at certain immersion times (Figure 7D). The *Lobulomyces* genus (mean from days 0 to 30 of 0.6% vs. mean between days 35 and 365 of 5.3%), as well as the environmental clade LKM11 (mean from days 0 to 30 of 0.4% vs. mean between days 35 and 365 of 5.0%) were more prevalent in later immersion times. *Cystofilobasidium* was more abundant in the early stages of incubation (mean of 0.4%) than in the later stages (mean of 0.3%) at days 4, 7, and 8, as well as other genera such as *Cladosporium* (mean from days 0 to 30 of 7.5% vs. mean between days 35 and 365 of 3.4%).

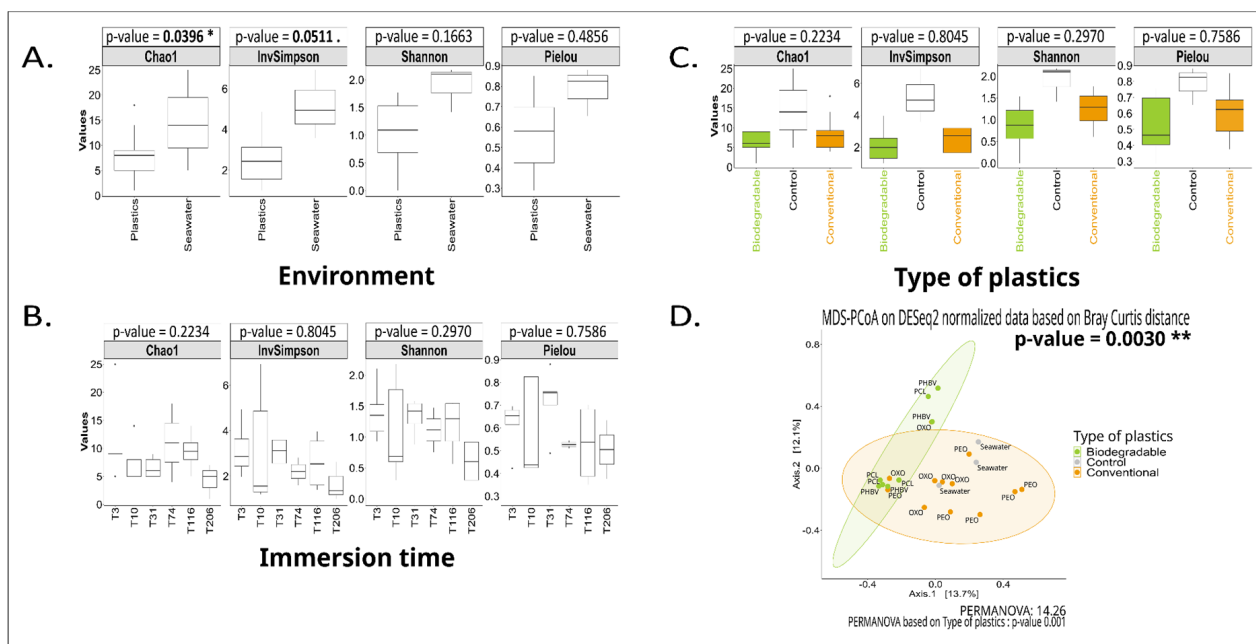
The 'Environment' variable (comparison of plastics vs. surrounding seawater) revealed that all phyla had a differential proportion (Figure 7E). The Ascomycota accounted for about two-thirds of the overall diversity (63.0%), with a 62.8% relative proportion on plastics and a 95.1% relative proportion in the surrounding seawater. The Basidiomycota phylum, although weakly represented, showed a larger relative proportion on plastics (19.7%) than in the surrounding seawater (4.9%). The Chytridiomycota (14.8%), Cryptomycota (1.9%), and Mucoromycota (0.5%) phyla were only detected on PVC samples.

Although results generated using the genetic marker ITS2 and those using the V4 region of the 18S rRNA gene were largely consistent, some genera identified using ITS2 were not detected in the 18S dataset (for example, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Knufia*, *Mycosphaerella*), a difference that may be due to significantly lower richness and diversity compared to the ITS2 dataset (Figure 7F). The *Rhodotorula* genus was identified in higher concentrations in the surrounding water compared to PVC samples (4.9% vs. 0.5%). The low diversity and richness reported in the surrounding seawater may explain why many genera were only detected on plastics using the V4 region of the 18S rRNA gene, namely, *Malassezia* (3.6%), *Lobulomyces* (2.5%), the environmental clade LKM11 (1.9%), *Cladosporium* (0.03%), unidentified Sordariomycetes (0.3%), *Taphrina* (0.3%), *Trechispora* (0.1%), and *Classicula* (0.1%).

### 3.2. Long-Term Immersion of Plastics in Controlled Conditions

A second set of results was obtained for different plastic types, either conventional (PEO and OXO) or biodegradable (PCL and PHBV), immersed in aquariums in Banyuls-sur-Mer, with direct circulation to the Mediterranean Sea in darkness. A fungal community structure was highlighted and appeared unique and relatively complex, depending on the considered plastic type and dynamic.

Illumina Miseq DNA sequencing generated 1,059,789 paired sequences for the 24 polymer film samples incubated in direct-to-sea aquariums. These iTAGs generated 138 fungal ASVs (Supplementary Table S4). The tested variables were 'Environment' (plastics vs. seawater), 'Type of plastics' (conventional vs. biodegradable), and 'Incubation time' (from 3 to 206 days) (Figure 8). No difference was observed for the 'Type of plastics' and 'Incubation time' variables (Figure 8B,C); only the 'Environment' variable showed significant difference for the Chao1 index ( $p$ -value = 0.0396), while the InvSimpson index appeared close to 0.05 ( $p$ -value = 0.0511), indicating a clear difference between the free fungal communities in seawater and those associated with plastic films (Figure 8A). The Chao1, Pielou, Shannon, and InvSimpson indices, which were used to assess alpha diversity, showed clear trends of lower values for fungal communities associated with plastics compared to those in surrounding seawater samples, indicating lower richness and equitability. There were significant disparities in the amount of fungal ASVs found in samples taken from plastics and surrounding seawater (Figure 8A). The seawater samples had an average of 14.66 fungal ASVs, which was higher than the average of 7.43 fungal ASVs in plastic samples, and just 13 ASVs appeared to be shared across the two environments, hence representing about 9% of the total ASVs.



**Figure 8.** Significance of alpha diversity indices for the variable (A) “Environment”, (B) “Immersion time” (days), and (C) “Type of plastics”. (D) The PCoA demonstrates the relationship between the similarity in fungal community composition and the variable “Type of plastics”. “\*” and “\*\*” represent a significant, and a highly significant influence of the evaluated factor, respectively. The PCoA was generated using Bray–Curtis dissimilarity as the distance measure, with each point representing a sample. Ellipses connect groups of samples that were subjected to the same conditions.

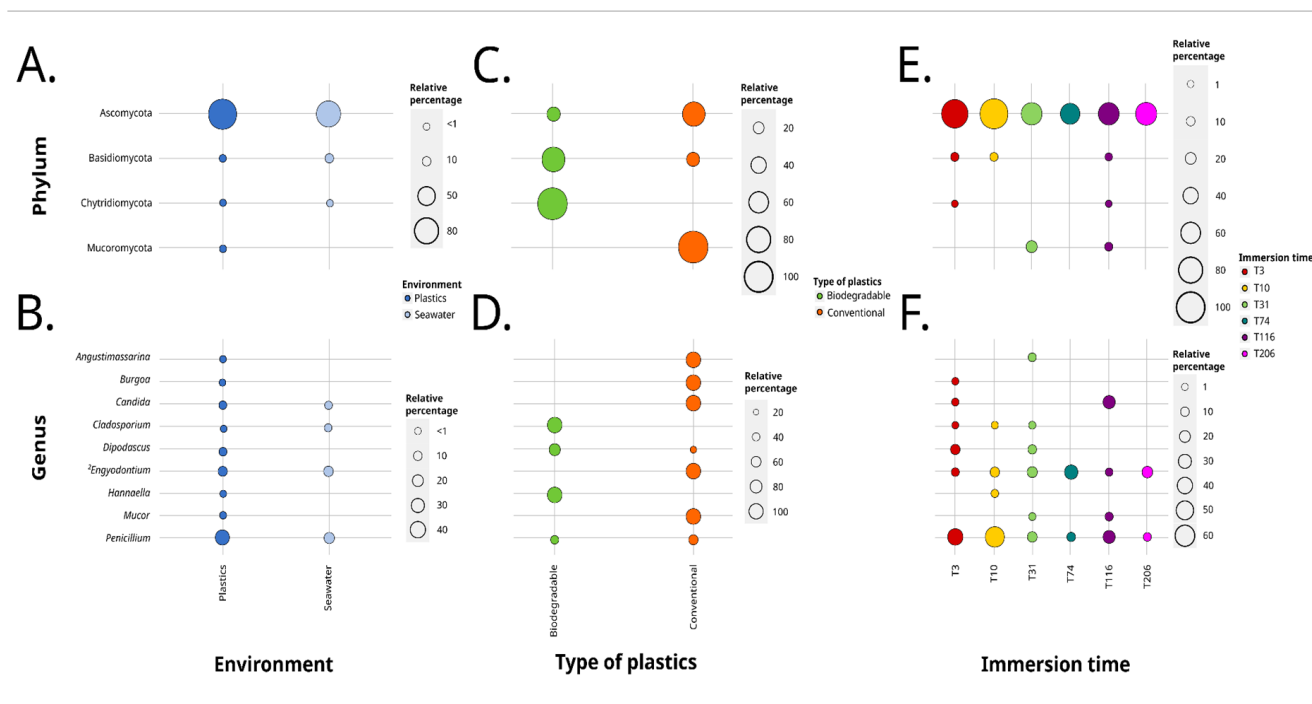
For beta diversity visualization, the PCoA method normalized by DESeq 2 and based on Bray–Curtis dissimilarities was used for each variable. The ‘Type of plastics’ variable was the only one that showed significant difference between samples ( $p$ -value = 0.0030) (Figure 8D) and thus appeared as the main parameter structuring the fungal communities. Indeed, while alpha-diversity analyses did not reveal intraspecific difference between fungal communities associated with biodegradable (PCL and PHBV) and conventional (PEO and OXO) plastics, beta-diversity analyses strongly indicated a significant interspecific difference. Sixty-one ASVs were unique to conventional plastics and 32 to biodegradable plastics. Six ASVs were shared by the two plastic types. Conventional plastics had four ASVs in common with the surrounding seawater, while biodegradable plastics only had two. Remarkably, fungal communities in seawater exhibit a higher degree of similarity with those found on conventional plastics.

The Ascomycota phylum was found in greater number in surrounding seawater (77.3%) than on plastics (73.6%) as Chytridiomycota (1.5% vs. 0.3%) and Basidiomycota (9.1% vs. 3.1%), in contrast to Mucoromycota, which was only observed on plastics (2.6%) (Figure 9A,B).

A bubble plot for the ‘Type of plastics’ variable was used to visualize taxonomic diversity at the phylum level (Figure 9B,C). Ascomycota was the most commonly detected and abundant phylum associated with conventional plastics (70.6%) in contrast to Basidiomycota, which was the most frequently detected and abundant phylum associated with biodegradable plastics (71.6%). The phylum Mucoromycota was exclusively present on conventional plastics, while the phylum Chytridiomycota was only present on biodegradable plastics. Taxonomic diversity associated with conventional and biodegradable plastics was similar at the genus level. *Penicillium* was the most shared genus between the two types of plastics (biodegradable 43.8% vs. conventional 56.2%). Fewer ASVs (34.3%) were found on biodegradable plastics, compared to 65.7% on conventional plastics. While some genera were predominant on biodegradable plastics compared to conventional plastics (e.g., *Dipodascus*, 70.8% vs. 29.2%), others were only present on conventional plastics (e.g., *Burgoa*,



*Candida*, *Mucor*, and *Engyodontium*). The latter genus was characterized as a differentially abundant taxon on the basis of ANCOM, clearly showing that this genus is significantly abundant on conventional plastics. Other genera, such as *Angustimassarina* and *Hannaella*, were only found on one plastic polymer (OXO and PHBV, respectively).



**Figure 9.** Bubble-plot representing the proportions of phyla or genus according to the variables (A,B) “Environment”, (C,D) “Type of plastics”, and (E,F) “Incubation time” (days).

#### 4. Discussion

Our analyses provide original information to better understand fungal diversity and ecology on different polymers immersed in marine natural environments and under laboratory-controlled settings. The main conclusions correspond to (i) the distinction between polymer and free-living fungal communities, and the impact of (ii) the type of plastics (conventional vs. biodegradable), (iii) the location and associated environmental parameters, and (iv) the immersion duration on the fungal colonization. Our findings demonstrate that plastics provide a novel ecological niche for surface-associated fungi in the marine environment and that these fungi are actual members of the plastisphere.

##### 4.1. Plastics Influence Marine Fungal Communities

Fungal community structure differed between plastics and the surrounding seawater regardless of the polymer type, either in natural settings or in controlled conditions (aquariums), and based on either ITS2 or the V4 region of the 18S rRNA gene datasets. It has been well established that microbial communities associated with marine plastics strongly diverge from those living free in surrounding seawaters [23]. Since the discovery of the unique microbial communities, referred to as the “plastisphere”, harbored by marine plastic debris [26], a large majority of studies depicted significantly higher bacterial community richness on plastics compared to seawater (e.g., [32,34,38,41,62]). Moreover, our DNA extracts were the same used in Catao et al. (2021) [45] that also showed specific bacterial biofilm communities compared to planktonic ones. This pattern was not confirmed for aquatic microeukaryotes in the Baltic Sea, where PE and PS samples showed significantly lower richness than surrounding water samples [63], a specific trend that was also shown for fungi on the same samples [37]. Using a culture-dependent approach, a lower fungal species richness on uncharacterized MPs was also highlighted compared to the surround-

ing sediments [42], suggesting a selection phenomenon exerted by the plastic matrix. Our findings on PVC immersed in natural settings thus appear to be in stark contrast to these previous works, but are still in line with a recent study highlighting higher fungal community richness on PVC compared to seawater [64]. This strongly suggests that microbial colonization of plastics in natural settings is a multidimensional process that depends on many parameters, the environmental factors of each studied habitat being the most important one [65]. Thus, as depicted for bacterial communities [28,31], fungi associated with plastic are also strongly influenced by their surrounding environment and do not converge toward a standardized plastisphere. However, the influence of plastic polymers, more precisely their intrinsic features, cannot be totally ignored. Indeed, previous studies have characterized PVC as a putative inhibitor of specific bacterial communities, more precisely filamentous cyanobacteria [46], because of plastic-weathering-generating leachates, such as phthalates, known to limit the colonization of specific bacterial taxa (e.g., on *Prochlorococcus*, as described in Tetu et al. (2019) [66], albeit under laboratory conditions). This process may thus indirectly promote the establishment of fungal communities on some specific plastics due to the inhibition of certain bacterial communities.

A distinct contrast was noted under controlled conditions in aquariums in darkness, as fungal diversity and richness appeared lower when compared to seawater. This trend appears to be inconsistent with previous studies targeting bacterial communities that have used a comparable metabarcoding approach but found bacterial richness to be higher on plastic samples compared to the free-living fraction [41]. This may be explained by the competitive exclusion principle, more precisely, competition for space as microorganisms colonize a surface leading to low fungal richness on a plastic surface when bacterial richness is high and higher fungal richness when some bacterial taxa are constrained. When examining the entire dataset, which includes both natural settings and controlled conditions, our results suggest that light may also be an important parameter structuring fungal communities associated with plastics. Wallbank et al. (2022) [67] highlighted that a 50% decline in light intensity with a depth from 20 to 60 cm beneath the water surface had no significant impact on plastic-associated fungal community composition. Here, we can hypothesize that presence of light, instead of light intensity, represents a non-trivial parameter influencing fungal abundance on marine plastics, either directly or indirectly through the settlement of biofouling macro- and microorganisms. Light definitely triggers the colonization of photosynthetic organisms on plastic surfaces in natural environments, and this may explain the presence of specific fungal taxa that are known to interact with these photosynthetic macro- and microorganisms in our data sets. Indeed, in natural settings, on PVC, while certain organisms of the Chytridiomycota phylum were found in both seawater and on plastics, others from the Rozellomycota or Aphelidiomycota phyla were only found on this polymer. Taxa from these phyla have been demonstrated to be parasites of many algal groups, including diatoms [68,69], and could parasitize dense microalgal biofilms on the surface of plastics [33,70]. In order to emphasize the relative complexity of fungal communities associated with plastics, in terms of diversity, richness, but also known lifestyles, some putative plastic-degraders were also detected here. At the genus level, ASVs affiliated with *Alternaria* were detected on PVC in all sites, underlining its ubiquitous nature. Knowing that a recent study highlighted the ability of the marine isolate *Alternaria alternata* FB1 to degrade PE [44], and that plastic degraders occur mainly during the first stages of colonization as pioneer microorganisms [23], the presence of this genus mostly during the early stages of colonization of PVC appears consistent in terms of both time and space. At the species level, the *Aureobasidium pullulans*, *Chaetomium globosum*, and *Penicillium citrinum* species, almost exclusively present on PVC in this study, have already been reported to show PVC degradation potential [71]. The presence of such putative plastic-degraders definitely paves the way for further studies to better understand the functions of plastic-associated marine fungi and their real abilities to utilize plastic polymers as a carbon source.

#### 4.2. The Biodegradable and Conventional Nature of Polymers Impacts the Plastic-Associated Fungal Community

Based on the two types of plastic material immersion, either in natural settings or in controlled conditions (aquariums), our results clearly show that there are no significant differences in terms of community composition among polymers of a similar type (conventional or biodegradable), but that fungal communities associated with biodegradable plastics are significantly different from those associated with conventional ones. Our results thus appear consistent with previous studies highlighting no distinct communities on plastics related to the same type, either for bacterial communities [34,72,73], microeukaryotes [27,34], or specifically, fungi [37,74]. The abundance and diversity of bacteria were shown to vary greatly between biodegradable and conventional plastics [75,76]. Similar results were obtained on bacterial and microeukaryotic communities when comparing PE and PP to PBAT/PLA [77]. Differences in terms of community composition are related to intrinsic features such as hydrophobicity, surface roughness, and density, which vary significantly between biodegradable and conventional polymers [77,78]. The type of polymers (biodegradable vs. conventional polymers) definitely impacts the microbial community composition of the plastisphere. As observed by Li et al. (2023) [79], conventional plastics have greater richness and diversity than biodegradable plastics. Conventional plastics with a poor biodegradability and more hydrophobic surface may thus favor random microbial colonization and are more likely to house a broader diversity of bacteria in the absence of particular selection [80]. This has been confirmed by Mercier et al. (2017) [81], revealing that the surface of PET had higher bacterial operational taxonomic units (OTUs) and Shannon index compared to the surfaces of three other biodegradable polymers. Therefore, compared to biodegradable plastics, conventional plastics seem to favor more bacterial and fungal communities [40]. Here, no significant differences were observed for fungal communities in terms of alpha diversity between biodegradable and conventional plastics. However, as only seven kinds of plastic polymers were used, it is quite difficult to compare these results to previous studies. Clear differences in terms of beta-diversity between biodegradable and conventional plastics allowed us to highlight specific taxa being related to one type of plastics. Using the ITS2 genetic marker, only biodegradable plastics harbored the *Dipodascus* genus, more specifically, *Dipodascus australiensis*, a fungus already reported as dominant in corn silage kept in biodegradable films [82]. Using the ANCOM tool, *Engyodontium* was emphasized as specifically associated with conventional plastics, which appears consistent with a previous study describing *Engyodontium* as plastic degraders, more precisely, through its ability to biodegrade pretreated PP [83].

#### 4.3. Geographical Location Impacts the Plastic-Associated Fungal Community

Besides the intrinsic features of plastics, the immersion location and associated environmental parameters have a major influence on microbial communities [72,84]. According to recent research targeting the bacterial and microeukaryotic populations associated with plastics, location, followed by time, and then plastic type, appeared as the main factors structuring microbial communities [77].

Our results clearly confirmed that the structure of fungal communities associated with plastics varied significantly based on their geographic location, and specifically, a clear dichotomy between open ocean sites (Brest, Lorient and Le Port) versus a semi-enclosed basin (Mediterranean Sea). Knowing that the studied open ocean sites are eutrophic and the semi-enclosed ones are mesotrophic [45], we can hypothesize that the trophic level is another major parameter structuring fungal communities associated with plastics. The observed dichotomy between sites appears consistent with several field-sampling studies. Indeed, using plastic litter samples of the North Sea, location was shown to impact the bacterial colonization of plastics [85], a pattern that was also observed for eukaryotic communities in North and Baltic seas [86]. Characterization of the plastisphere from PP and PE samples collected off the coast of Italy led to the conclusion that geographical location (sampling sites) was the main structuring factor [87]. However, no difference in terms of



fungal colonization was found between plastics collected in the western South Atlantic Ocean compared to those harvested in the Antarctic Peninsula [39]. Such discrepancy may be due to a better stabilization of fungal communities, meaning a kind of convergence of biofilm after long drift in the marine environment and highlights the limitations of field sampling, representing snapshots of plastic colonization at uncertain times.

Our results also strongly highlighted the importance of the ‘Temperature’ parameter, with higher richness when sites were characterized by temperatures between 21 and 26 °C, in line with the global thermal preference of marine fungi [88,89], strengthening the importance of the location and associated environmental parameters on the colonization potential of plastics by fungi. Stages of microbial colonization definitely depend on the growth rate of the biofilm, which itself is determined by numerous factors including temperature, salinity, light, nutrient availability, etc. [23,28,90]. Our results thus tend to reinforce such statements. The trends observed for bacteria and specific protists associated with plastics are likely to hold true for fungi as well.

#### *4.4. Immersion Duration Impacts the Plastic-Associated Fungal Community*

The dynamic of microbial colonization of plastic matrices in the marine environment is a non-trivial question, and recent surveys come to the conclusion that if strong shifts occur during the early stages of microbial colonization, communities converge as stable mature biofilms [23]. However, the stochastic colonization of pioneering microorganisms, along with the continuous influence of the surrounding environment may yet limit communities from converging toward a unique standardized plastisphere, as previously shown for bacteria [46,91].

Our results regarding PVC immersed in natural settings clearly highlighted a fungal colonization dynamic with a shift between the first 30 to 40 days of immersion, characterized by early stages of colonization and biofilm formation, followed by a second stage with distinct communities likely associated with biofouling. At this particular stage, it is important to take a step back and acknowledge the limitations of our approach. Our study involved the integration of results from multiple research projects, each using different PVC matrices (pellets versus panels) and DNA extraction methods (kit versus phenol-chloroform). As such, the data visualization we present may be subject to biases. However, we have taken measures to control for these biases by conducting individual analyses (Supplementary Figure S3) that demonstrated consistent trends across different PVC matrices and sample sites (albeit less pronounced for samples collected in Brest), using either ITS2 or 18S data sets. While our results appear robust, but still not free from biases, we acknowledge the need for further analyses to confirm their validity.

A previous immersed-based study focusing on the colonization of PE by fungal communities however concluded that no clear temporal profile could be established [38], illustrating once again the multiparametric process of fungal colonization and calling for more studies on fungi to better understand the colonization success and dynamics. Our results were consistent with previous research on bacteria, which showed that biofilms on conventional plastics matured after approximately 30 days under controlled conditions [29,47,92]. After this first stage of biofilm formation, our results highlighted a second stage that may be correlated to the implementation of photosynthetic macro and microorganisms as part of the biofouling communities [28,93]. Consistent with such a hypothesis, at late immersion sampling time points, the Chytridiomycota, Rozellomycota, Aphelidomycota, and Cryptomycota phyla, which are described as parasites of numerous algal groups, were present, and thus may suggest an interaction with biofouling macroorganisms. This raises important ecological questions, knowing that plastic waste is hypothesized to act as a vector for toxic algal bloom species in marine habitats, with the potential to disturb the oceanic carbon pump and vertical nutrient flows [63].

Finally, and specifically for the PE, PP, and PVC samples immersed in Brest, the temporal succession of the biofilm along with the effect of tidal influence were shown as significant structuring parameters. Plastic samples specifically deployed in an intertidal area, which

were impacted by regular fluctuations of the environment by repeated cycles of emersion and immersion, harbored significantly different fungal communities compared to those immersed in subtidal areas. In addition, fungal communities evolved through time within this specific intertidal level, consistent with previous results on bacterial communities on the same samples [46]. The specific pattern showing that bacterial communities associated with plastics are dramatically and continuously influenced by the environment [91] can thus be extended to the fungal kingdom.

## 5. Conclusions

Overall, through a metabarcoding analysis of a broad set of samples, which allowed for a determination of the diversity and distribution patterns of fungal communities associated with plastics immersed in natural and controlled settings, we were able to demonstrate that (i) the fungal Kingdom is an integrated part of the plastisphere, (ii) plastic-associated fungal communities are relatively complex and distinct from those living in surrounding seawaters, and (iii) locations and inherent environmental parameters, type of plastics (conventional vs. biodegradable), and immersion duration have strong influence on fungal colonization. Our findings pave the way for further studies to delve deeper into the biodegradation capabilities and functionalities of these fungal communities.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/d15040579/s1>, Figure S1: Significance of alpha diversity indices for the variable "Temperature"; Figure S2: Alpha and beta-diversity analyses for the variables "Polymers", "Tidal location" and "Immersion time". Figure S3: Alpha diversity indices and their associated significance for the variable "Immersion time". Table S1: Summary of the information regarding samples and methods used in each PVC-dedicated study. Table S2: Number of reads before and after processing, number of ASVs, and alpha diversity index values for each sample for the ITS2 dataset (natural settings). Table S3: Number of reads before and after processing, number of ASVs, and alpha diversity index values for each sample for the 18S dataset (natural settings). Table S4: Number of reads before and after processing, number of ASVs, and alpha diversity index values for each sample for the ITS dataset (controlled conditions).

**Author Contributions:** G.B. and E.C. acquired funding. J.-F.G., J.-F.B. and I.P.-P. supplied plastic and water DNA extracts. A.P. and C.N. performed metabarcoding analyses and generated all tables and figures. B.E. provided valuable information as a polymer chemist. A.P., E.C. and G.B. analyzed the data sets. E.C. and G.B. supervised the scientific management of the PhD work. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This study was funded by the French National Research Agency ANR-19-CE04-0001-01 Mycoplast project, the ANR project BIOPAINTROP and the Direction Générale de l'Armement, French Government Defense procurement and technology agency (Program DRACONS), the ANR CESA (ANR-15-CE34-0006-02; NANOPLASTICS project) and by the Unique Inter-ministerial Fund (FUI) and the local communities (CR Bretagne, CR PACA, CD29, CATPM and Brest Metropole) as part of the MICROPLASTIC2 project (Region Bretagne 0214/15008381/00001897, Bpifrance D0S0028206/00).

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** The data produce in this study can be found in <https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/home> (accessed on 4 March 2023, project number PRJEB61401, release date May 2023).

**Acknowledgments:** We thank the scuba diving service of the Oceanographic Observatory of Banyuls-sur-Mer (OOB) for the immersion at the SOLA Buoy at Banyuls, D. Copin (LBCM, UBS) and A. Tunin-Ley (CITEB, La Réunion) for immersion and sampling at Lorient and Le Port respectively. Authors thank A. Huvet, M. Chalopin, F. Le Roux and Y. Labreuche for their help in acquiring the plastic and DNA samples in the bay of Brest.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Plastics Europe Plastics—The Facts 2020: An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data 2020. Available online: <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2020/> (accessed on 4 March 2023).
2. Jambeck, J.R.; Geyer, R.; Wilcox, C.; Siegler, T.R.; Perryman, M.; Andrady, A.; Narayan, R.; Law, K.L. Plastic Waste Inputs from Land into the Ocean. *Science* **2015**, *347*, 768–771. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Avio, C.G.; Gorbi, S.; Regoli, F. Plastics and Microplastics in the Oceans: From Emerging Pollutants to Emerged Threat. *Mar. Environ. Res.* **2017**, *128*, 2–11. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Ritchie, H.; Roser, M. *Plastic Pollution. Our World Data 2018*; UN Environment Programme: Nairobi, Kenya, 2018.
5. Ruiz, I.; Ana J., A.; Basurko, O.C.; Rubio, A. Modelling the Distribution of Fishing-Related Floating Marine Litter within the Bay of Biscay and Its Marine Protected Areas. *Environ. Pollut.* **2022**, *292*, 118216. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Schneider, F.; Kunz, A.; Hu, C.-S.; Yen, N.; Lin, H.-T. Rapid-Survey Methodology to Assess Litter Volumes along Large River Systems—A Case Study of the Tamsui River in Taiwan. *Sustainability* **2021**, *13*, 8765. [[CrossRef](#)]
7. UNEP. From Pollution to Solution: A Global Assessment of Marine Litter and Plastic Pollution 2021. Available online: <https://www.unep.org/resources/pollution-solution-global-assessment-marine-litter-and-plastic-pollution> (accessed on 4 March 2023).
8. Zalasiewicz, J.; Waters, C.N.; Ivar do Sul, J.A.; Corcoran, P.L.; Barnosky, A.D.; Cearreta, A.; Edgeworth, M.; Gałuszka, A.; Jeandel, C.; Leinfelder, R.; et al. The Geological Cycle of Plastics and Their Use as a Stratigraphic Indicator of the Anthropocene. *Anthropocene* **2016**, *13*, 4–17. [[CrossRef](#)]
9. Porta, R. Anthropocene, the Plastic Age and Future Perspectives. *FEBS Open Bio.* **2021**, *11*, 948–953. [[CrossRef](#)]
10. García Rellán, A.; Vázquez Ares, D.; Vázquez Brea, C.; Francisco López, A.; Bello Bugallo, P.M. Sources, Sinks and Transformations of Plastics in Our Oceans: Review, Management Strategies and Modelling. *Sci. Total Environ.* **2023**, *854*, 158745. [[CrossRef](#)]
11. Liu, X.; Gao, C.; Sangwan, P.; Yu, L.; Tong, Z. Accelerating the Degradation of Polyolefins through Additives and Blending. *J. Appl. Polym. Sci.* **2014**, *131*, 1–15. [[CrossRef](#)]
12. O’Brine, T.; Thompson, R.C. Degradation of Plastic Carrier Bags in the Marine Environment. *Mar. Pollut. Bull.* **2010**, *60*, 2279–2283. [[CrossRef](#)]
13. Alvarez-Zeferino, J.C.; Beltrán-Villavicencio, M.; Vázquez-Morillas, A. Degradation of Plastics in Seawater in Laboratory. *Open J. Polym. Chem.* **2015**, *5*, 55–62. [[CrossRef](#)]
14. Sharma, P.; Gaur, V.K.; Sirohi, R.; Varjani, S.; Hyoun Kim, S.; Wong, J.W.C. Sustainable Processing of Food Waste for Production of Bio-Based Products for Circular Bioeconomy. *Bioresour. Technol.* **2021**, *325*, 124684. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Ghosh, K.; Jones, B.H. Roadmap to Biodegradable Plastics—Current State and Research Needs. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2021**, *9*, 6170–6187. [[CrossRef](#)]
16. Havstad, M.R. Biodegradable Plastics. In *Plastic Waste and Recycling*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2020; pp. 97–129. ISBN 978-0-12-817880-5.
17. Melchor-Martínez, E.M.; Macías-Garbett, R.; Alvarado-Ramírez, L.; Araújo, R.G.; Sosa-Hernández, J.E.; Ramírez-Gamboa, D.; Parra-Arroyo, L.; Alvarez, A.G.; Monteverde, R.P.B.; Cazares, K.A.S.; et al. Towards a Circular Economy of Plastics: An Evaluation of the Systematic Transition to a New Generation of Bioplastics. *Polymers* **2022**, *14*, 1203. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Jacquin, J.; Callac, N.; Cheng, J.; Giraud, C.; Gorand, Y.; Denoual, C.; Pujon-Pay, M.; Conan, P.; Meistertzheim, A.-L.; Barbe, V.; et al. Microbial Diversity and Activity during the Biodegradation in Seawater of Various Substitutes to Conventional Plastic Cotton Swab Sticks. *Front. Microbiol.* **2021**, *12*, 604395. [[CrossRef](#)]
19. Deroiné, M.; César, G.; Duigou, A.; Davies, P.; Bruzaud, S. Natural Degradation and Biodegradation of Poly (3-Hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyvalerate) in Liquid and Solid Marine Environments. *J. Polym. Environ.* **2015**, *23*, 493–505. [[CrossRef](#)]
20. Suzuki, S.; Ikada, Y. Medical Applications. In *Poly(Lactic Acid)*; John Wiley & Sons, Ltd.: Hoboken, NJ, USA, 2022; pp. 581–604. ISBN 978-1-119-76748-0.
21. Wang, G.-X.; Huang, D.; Ji, J.-H.; Völker, C.; Wurm, F.R. Seawater-Degradable Polymers—Fighting the Marine Plastic Pollution. *Adv. Sci.* **2021**, *8*, 2001121. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Suzuki, M.; Tachibana, Y.; Kasuya, K. Biodegradability of Poly(3-Hydroxyalkanoate) and Poly( $\epsilon$ -Caprolactone) via Biological Carbon Cycles in Marine Environments. *Polym. J.* **2021**, *53*, 47–66. [[CrossRef](#)]
23. Wright, R.J.; Erni-Cassola, G.; Zadjelovic, V.; Latva, M.; Christie-Oleza, J.A. Marine Plastic Debris: A New Surface for Microbial Colonization. *Environ. Sci. Technol.* **2020**, *54*, 11657–11672. [[CrossRef](#)]
24. ter Halle, A.; Ghiglione, J.F. Nanoplastics: A Complex, Polluting Terra Incognita. *Environ. Sci. Technol.* **2021**, *55*, 14466–14469. [[CrossRef](#)]
25. Latva, M.; Dedman, C.J.; Wright, R.J.; Polin, M.; Christie-Oleza, J.A. Microbial Pioneers of Plastic Colonisation in Coastal Seawaters. *Mar. Pollut. Bull.* **2022**, *179*, 113701. [[CrossRef](#)]
26. Zettler, E.R.; Mincer, T.J.; Amaral-Zettler, L.A. Life in the “Plastisphere”: Microbial Communities on Plastic Marine Debris. *Environ. Sci. Technol.* **2013**, *47*, 7137–7146. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Kirstein, I.V.; Wichels, A.; Krohne, G.; Gerdt, G. Mature Biofilm Communities on Synthetic Polymers in Seawater-Specific or General? *Mar. Environ. Res.* **2018**, *142*, 147–154. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Cheng, J.; Jacquin, J.; Conan, P.; Pujon-Pay, M.; Barbe, V.; George, M.; Fabre, P.; Bruzaud, S.; Ter Halle, A.; Meistertzheim, A.-L.; et al. Relative Influence of Plastic Debris Size and Shape, Chemical Composition and Phytoplankton-Bacteria Interactions in Driving Seawater Plastisphere Abundance, Diversity and Activity. *Front. Microbiol.* **2021**, *11*, 610231. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

29. Pollet, T.; Berdjeb, L.; Garnier, C.; Durrieu, G.; Le Poupon, C.; Misson, B.; Briand, J.-F. Prokaryotic Community Successions and Interactions in Marine Biofilms: The Key Role of Flavobacteriia. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2018**, *94*, fiy083. [CrossRef] [PubMed]
30. Dang, H.; Lovell, C.R. Microbial Surface Colonization and Biofilm Development in Marine Environments. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2015**, *80*, 91–138. [CrossRef] [PubMed]
31. Wright, R.J.; Langille, M.G.I.; Walker, T.R. Food or Just a Free Ride? A Meta-Analysis Reveals the Global Diversity of the Plastisphere. *ISME J.* **2021**, *15*, 789–806. [CrossRef]
32. Bryant, J.A.; Clemente, T.M.; Viviani, D.A.; Fong, A.A.; Thomas, K.A.; Kemp, P.; Karl, D.M.; White, A.E.; DeLong, E.F. Diversity and Activity of Communities Inhabiting Plastic Debris in the North Pacific Gyre. *mSystems* **2016**, *1*. [CrossRef]
33. Oberbeckmann, S.; Osborn, A.M.; Duhaime, M.B. Microbes on a Bottle: Substrate, Season and Geography Influence Community Composition of Microbes Colonizing Marine Plastic Debris. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0159289. [CrossRef]
34. Debroas, D.; Domaizon, I.; Humbert, J.-F.; Jardillier, L.; Lepère, C.; Oudart, A.; Taïb, N. Overview of Freshwater Microbial Eukaryotes Diversity: A First Analysis of Publicly Available Metabarcoding Data. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2017**, *93*. [CrossRef]
35. Amaral-Zettler, L.A.; Ballerini, T.; Zettler, E.R.; Asbun, A.A.; Adame, A.; Casotti, R.; Dumontet, B.; Donnarumma, V.; Engelmann, J.C.; Frère, L.; et al. Diversity and Predicted Inter- and Intra-Domain Interactions in the Mediterranean Plastisphere. *Environ. Pollut.* **2021**, *286*, 117439. [CrossRef]
36. Djaoudi, K.; Onrubia, J.A.T.; Boukra, A.; Guesnay, L.; Portas, A.; Barry-Martin, R.; Angeletti, B.; Mounier, S.; Lenoble, V.; Briand, J.-F. Seawater Copper Content Controls Biofilm Bioaccumulation and Microbial Community on Microplastics. *Sci. Total Environ.* **2022**, *814*, 152278. [CrossRef] [PubMed]
37. Kettner, M.T.; Rojas-Jimenez, K.; Oberbeckmann, S.; Labrenz, M.; Grossart, H.-P. Microplastics Alter Composition of Fungal Communities in Aquatic Ecosystems: Fungal Communities on Microplastics. *Environ. Microbiol.* **2017**, *19*, 4447–4459. [CrossRef] [PubMed]
38. De Tender, C.; Devriese, L.I.; Haegeman, A.; Maes, S.; Vangeyte, J.; Cattrijsse, A.; Dawyndt, P.; Ruttink, T. Temporal Dynamics of Bacterial and Fungal Colonization on Plastic Debris in the North Sea. *Environ. Sci. Technol.* **2017**, *51*, 7350–7360. [CrossRef] [PubMed]
39. Lacerda, A.L.d.F.; Proietti, M.C.; Secchi, E.R.; Taylor, J.D. Diverse Groups of Fungi Are Associated with Plastics in the Surface Waters of the Western South Atlantic and the Antarctic Peninsula. *Mol. Ecol.* **2020**, *29*, 1903–1918. [CrossRef] [PubMed]
40. Peng, C.; Wang, J.; Liu, X.; Wang, L. Differences in the Plastispheres of Biodegradable and Non-Biodegradable Plastics: A Mini Review. *Front. Microbiol.* **2022**, *13*, 849147. [CrossRef] [PubMed]
41. Dussud, C.; Meistertzheim, A.L.; Conan, P.; Pujó-Pay, M.; George, M.; Fabre, P.; Coudane, J.; Higgs, P.; Elineau, A.; Pedrotti, M.L.; et al. Evidence of Niche Partitioning among Bacteria Living on Plastics, Organic Particles and Surrounding Seawaters. *Environ. Pollut.* **2018**, *236*, 807–816. [CrossRef]
42. Florio Furno, M.; Poli, A.; Ferrero, D.; Tardelli, F.; Manzini, C.; Oliva, M.; Pretti, C.; Campani, T.; Casini, S.; Fossi, M.C.; et al. The Culturable Mycobiota of Sediments and Associated Microplastics: From a Harbor to a Marine Protected Area, a Comparative Study. *J. Fungi* **2022**, *8*, 927. [CrossRef]
43. Paço, A.; Duarte, K.; da Costa, J.P.; Santos, P.S.M.; Pereira, R.; Pereira, M.E.; Freitas, A.C.; Duarte, A.C.; Rocha-Santos, T.A.P. Biodegradation of Polyethylene Microplastics by the Marine Fungus *Zalerion Maritimum*. *Sci. Total Environ.* **2017**, *586*, 10–15. [CrossRef]
44. Gao, R.; Liu, R.; Sun, C. A Marine Fungus *Alternaria Alternata* FB1 Efficiently Degrades Polyethylene. *J. Hazard. Mater.* **2022**, *431*, 128617. [CrossRef]
45. Catao, E.C.P.; Gallois, N.; Fay, F.; Misson, B.; Briand, J.-F. Metal Resistance Genes Enrichment in Marine Biofilm Communities Selected by Biocide-Containing Surfaces in Temperate and Tropical Coastal Environments. *Environ. Pollut.* **2021**, *268*, 115835. [CrossRef]
46. Lemonnier, C.; Chalopin, M.; Huvet, A.; Le Roux, F.; Labreuche, Y.; Petton, B.; Maignien, L.; Paul-Pont, I.; Reveillaud, J. Time-Series Incubations in a Coastal Environment Illuminates the Importance of Early Colonizers and the Complexity of Bacterial Biofilm Dynamics on Marine Plastics. *Environ. Pollut.* **2022**, *312*, 119994. [CrossRef] [PubMed]
47. Odobel, C.; Dussud, C.; Philip, L.; Derippe, G.; Lauters, M.; Eyheraguibel, B.; Burgaud, G.; Ter Halle, A.; Meistertzheim, A.-L.; Bruzard, S.; et al. Bacterial Abundance, Diversity and Activity During Long-Term Colonization of Non-Biodegradable and Biodegradable Plastics in Seawater. *Front. Microbiol.* **2021**, *12*, 734782. [CrossRef] [PubMed]
48. Taylor, D.L.; Walters, W.A.; Lennon, N.J.; Bochicchio, J.; Krohn, A.; Caporaso, J.G.; Pennanen, T. Accurate Estimation of Fungal Diversity and Abundance through Improved Lineage-Specific Primers Optimized for Illumina Amplicon Sequencing. *Appl. Environ. Microbiol.* **2016**, *82*, 7217–7226. [CrossRef]
49. Borneman, J.; Hartin, R.J. PCR Primers That Amplify Fungal rRNA Genes from Environmental Samples. *Appl. Environ. Microbiol.* **2000**, *66*, 4356–4360. [CrossRef] [PubMed]
50. Pachiadaki, M.G.; Rédou, V.; Beaudoin, D.J.; Burgaud, G.; Edgcomb, V.P. Fungal and Prokaryotic Activities in the Marine Subsurface Biosphere at Peru Margin and Canterbury Basin Inferred from RNA-Based Analyses and Microscopy. *Front. Microbiol.* **2016**, *7*. [CrossRef] [PubMed]
51. Noel, C.; Cormier, A.; Durand, P.; Leroi, L. SAMBA: Standardized and Automated MetaBarcoding Analyses Workflow. 2022. WorkflowHub. Available online: <https://workflowhub.eu/workflows/156> (accessed on 4 March 2023).



52. Di Tommaso, P.; Chatzou, M.; Floden, E.W.; Barja, P.P.; Palumbo, E.; Notredame, C. Nextflow Enables Reproducible Computational Workflows. *Nat. Biotechnol.* **2017**, *35*, 316–319. [[CrossRef](#)]
53. Bolyen, E.; Rideout, J.R.; Dillon, M.R.; Bokulich, N.A.; Abnet, C.C.; Al-Ghalith, G.A.; Alexander, H.; Alm, E.J.; Arumugam, M.; Asnicar, F.; et al. Reproducible, Interactive, Scalable and Extensible Microbiome Data Science Using QIIME 2. *Nat. Biotechnol.* **2019**, *37*, 852–857. [[CrossRef](#)]
54. Callahan, B.J.; McMurdie, P.J.; Rosen, M.J.; Han, A.W.; Johnson, A.J.A.; Holmes, S.P. DADA2: High-Resolution Sample Inference from Illumina Amplicon Data. *Nat. Methods* **2016**, *13*, 581–583. [[CrossRef](#)]
55. Martin, M. Cutadapt Removes Adapter Sequences from High-Throughput Sequencing Reads. *EMBnet. J.* **2011**, *17*, 10–12. [[CrossRef](#)]
56. Olesen, S.W.; Duvallet, C.; Alm, E.J. DbOTU3: A New Implementation of Distribution-Based OTU Calling. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0176335. [[CrossRef](#)]
57. Quast, C.; Pruesse, E.; Yilmaz, P.; Gerken, J.; Schweer, T.; Yarza, P.; Peplies, J.; Glöckner, F.O. The SILVA Ribosomal RNA Gene Database Project: Improved Data Processing and Web-Based Tools. *Nucleic Acids Res.* **2013**, *41*, D590–D596. [[CrossRef](#)]
58. Nilsson, R.H.; Larsson, K.-H.; Taylor, A.F.S.; Bengtsson-Palme, J.; Jeppesen, T.S.; Schigel, D.; Kennedy, P.; Picard, K.; Glöckner, F.O.; Tedersoo, L.; et al. The UNITE Database for Molecular Identification of Fungi: Handling Dark Taxa and Parallel Taxonomic Classifications. *Nucleic Acids Res.* **2019**, *47*, D259–D264. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. McMurdie, P.J.; Holmes, S. Waste Not, Want Not: Why Rarefying Microbiome Data Is Inadmissible. *PLoS Comput. Biol.* **2014**, *10*, e1003531. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Love, M.I.; Huber, W.; Anders, S. Moderated Estimation of Fold Change and Dispersion for RNA-Seq Data with DESeq2. *Genome Biol.* **2014**, *15*, 550. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Mandal, S.; Van Treuren, W.; White, R.A.; Eggesbø, M.; Knight, R.; Peddada, S.D. Analysis of Composition of Microbiomes: A Novel Method for Studying Microbial Composition. *Microb. Ecol. Health Dis.* **2015**, *26*, 27663. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Frère, L.; Maignien, L.; Chalopin, M.; Huvet, A.; Rinnert, E.; Morrison, H.; Kerninon, S.; Cassone, A.-L.; Lambert, C.; Reveillaud, J.; et al. Microplastic Bacterial Communities in the Bay of Brest: Influence of Polymer Type and Size. *Environ. Pollut. Barking Essex 1987* **2018**, *242*, 614–625. [[CrossRef](#)]
63. Kettner, M.T.; Oberbeckmann, S.; Labrenz, M.; Grossart, H.-P. The Eukaryotic Life on Microplastics in Brackish Ecosystems. *Front. Microbiol.* **2019**, *10*, 538. [[CrossRef](#)]
64. Yang, L.-Y.; Huang, X.-R.; Neilson, R.; Zhou, S.-Y.-D.; Li, Z.-L.; Yang, X.-R.; Su, X.-X. Characterization of Microbial Community, Ecological Functions and Antibiotic Resistance in Estuarine Plastisphere. *Sci. Total Environ.* **2023**, *866*, 161322. [[CrossRef](#)]
65. Yang, Y.; Liu, W.; Zhang, Z.; Grossart, H.-P.; Gadd, G.M. Microplastics Provide New Microbial Niches in Aquatic Environments. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2020**, *104*, 6501–6511. [[CrossRef](#)]
66. Tetu, S.G.; Sarker, I.; Schrameyer, V.; Pickford, R.; Elbourne, L.D.H.; Moore, L.R.; Paulsen, I.T. Plastic Leachates Impair Growth and Oxygen Production in *Prochlorococcus*, the Ocean’s Most Abundant Photosynthetic Bacteria. *Commun. Biol.* **2019**, *2*, 1–9. [[CrossRef](#)]
67. Wallbank, J.A.; Lear, G.; Kingsbury, J.M.; Weaver, L.; Doake, F.; Smith, D.A.; Audrézet, F.; Maday, S.D.M.; Gambarini, V.; Donaldson, L.; et al. Into the Plastisphere, Where Only the Generalists Thrive: Early Insights in Plastisphere Microbial Community Succession. *Front. Mar. Sci.* **2022**, *9*, 841142. [[CrossRef](#)]
68. Gerphagnon, M.; Colombet, J.; Latour, D.; Sime-Ngando, T. Spatial and Temporal Changes of Parasitic Chytrids of Cyanobacteria. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 6056. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Kagami, M.; de Bruin, A.; Ibelings, B.W.; Van Donk, E. Parasitic Chytrids: Their Effects on Phytoplankton Communities and Food-Web Dynamics. *Hydrobiologia* **2007**, *578*, 113–129. [[CrossRef](#)]
70. Lacerda, A.L.d.F.; Rodrigues, L. dos S.; van Sebille, E.; Rodrigues, F.L.; Ribeiro, L.; Secchi, E.R.; Kessler, F.; Proietti, M.C. Plastics in Sea Surface Waters around the Antarctic Peninsula. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 3977. [[CrossRef](#)]
71. Srikanth, M.; Sandeep, T.S.R.S.; Sucharitha, K.; Godi, S. Biodegradation of Plastic Polymers by Fungi: A Brief Review. *Bioresour. Bioprocess.* **2022**, *9*, 42. [[CrossRef](#)]
72. Oberbeckmann, S.; Kreikemeyer, B.; Labrenz, M. Environmental Factors Support the Formation of Specific Bacterial Assemblages on Microplastics. *Front. Microbiol.* **2018**, *8*, 2709. [[CrossRef](#)]
73. Pinto, M.; Langer, T.M.; Hüffer, T.; Hofmann, T.; Herndl, G.J. The Composition of Bacterial Communities Associated with Plastic Biofilms Differs between Different Polymers and Stages of Biofilm Succession. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0217165. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Wang, L.; Tong, J.; Li, Y.; Zhu, J.; Zhang, W.; Niu, L.; Zhang, H. Bacterial and Fungal Assemblages and Functions Associated with Biofilms Differ between Diverse Types of Plastic Debris in a Freshwater System. *Environ. Res.* **2021**, *196*, 110371. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Dussud, C.; Hudec, C.; George, M.; Fabre, P.; Higgs, P.; Bruzaud, S.; Delort, A.-M.; Eyheraguibel, B.; Meistertzheim, A.-L.; Jacquin, J.; et al. Colonization of Non-Biodegradable and Biodegradable Plastics by Marine Microorganisms. *Front. Microbiol.* **2018**, *9*, 1571. [[CrossRef](#)]
76. Eich, A.; Mildenerger, T.; Laforsch, C.; Weber, M. Biofilm and Diatom Succession on Polyethylene (PE) and Biodegradable Plastic Bags in Two Marine Habitats: Early Signs of Degradation in the Pelagic and Benthic Zone? *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0137201. [[CrossRef](#)]

77. Miao, L.; Li, W.; Adyel, T.M.; Yao, Y.; Deng, Y.; Wu, J.; Zhou, Y.; Yu, Y.; Hou, J. Spatio-Temporal Succession of Microbial Communities in Plasticsphere and Their Potentials for Plastic Degradation in Freshwater Ecosystems. *Water Res.* **2023**, *229*, 119406. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
78. Martínez-Campos, S.; González-Pleiter, M.; Fernández-Piñas, F.; Rosal, R.; Leganés, F. Early and Differential Bacterial Colonization on Microplastics Deployed into the Effluents of Wastewater Treatment Plants. *Sci. Total Environ.* **2021**, *757*, 143832. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
79. Li, K.; Jia, W.; Xu, L.; Zhang, M.; Huang, Y. The Plasticsphere of Biodegradable and Conventional Microplastics from Residues Exhibit Distinct Microbial Structure, Network and Function in Plastic-Mulching Farmland. *J. Hazard. Mater.* **2023**, *442*, 130011. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
80. Bandopadhyay, S.; Liquey y González, J.E.; Henderson, K.B.; Anunciado, M.B.; Hayes, D.G.; DeBruyn, J.M. Soil Microbial Communities Associated with Biodegradable Plastic Mulch Films. *Front. Microbiol.* **2020**, *11*, 587074. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
81. Mercier, A.; Gravouil, K.; Aucher, W.; Brosset-Vincent, S.; Kadri, L.; Colas, J.; Bouchon, D.; Ferreira, T. Fate of Eight Different Polymers under Uncontrolled Composting Conditions: Relationships Between Deterioration, Biofilm Formation, and the Material Surface Properties. *Environ. Sci. Technol.* **2017**, *51*, 1988–1997. [[CrossRef](#)]
82. Spadaro, D.; Bustos-Lopez, M.p.; Gullino, M.I.; Piano, S.; Tabacco, E.; Borreani, G. Evolution of Fungal Populations in Corn Silage Conserved under Polyethylene or Biodegradable Films. *J. Appl. Microbiol.* **2015**, *119*, 510–520. [[CrossRef](#)]
83. Jeyakumar, D.; Chirsteen, J.; Doble, M. Synergistic Effects of Pretreatment and Blending on Fungi Mediated Biodegradation of Polypropylenes. *Bioresour. Technol.* **2013**, *148*, 78–85. [[CrossRef](#)]
84. Harrison, J.P.; Schratzberger, M.; Sapp, M.; Osborn, A.M. Rapid Bacterial Colonization of Low-Density Polyethylene Microplastics in Coastal Sediment Microcosms. *BMC Microbiol.* **2014**, *14*, 232. [[CrossRef](#)]
85. De Tender, C.A.; Devriese, L.I.; Haegeman, A.; Maes, S.; Ruttink, T.; Dawyndt, P. Bacterial Community Profiling of Plastic Litter in the Belgian Part of the North Sea. *Environ. Sci. Technol.* **2015**, *49*, 9629–9638. [[CrossRef](#)]
86. Oberbeckmann, S.; Loeder, M.G.J.; Gerdts, G.; Osborn, A.M. Spatial and Seasonal Variation in Diversity and Structure of Microbial Biofilms on Marine Plastics in Northern European Waters. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2014**, *90*, 478–492. [[CrossRef](#)]
87. Basili, M.; Quero, G.M.; Giovannelli, D.; Manini, E.; Vignaroli, C.; Avio, C.G.; De Marco, R.; Luna, G.M. Major Role of Surrounding Environment in Shaping Biofilm Community Composition on Marine Plastic Debris. *Front. Mar. Sci.* **2020**, *7*, 262. [[CrossRef](#)]
88. Panebianco, C. Temperature Requirements of Selected Marine Fungi. *Bot. Mar.* **1994**, *37*, 157–162. [[CrossRef](#)]
89. Jones, E.B.G.; Ramakrishna, S.; Vikineswary, S.; Das, D.; Bahkali, A.H.; Guo, S.-Y.; Pang, K.-L. How Do Fungi Survive in the Sea and Respond to Climate Change? *J. Fungi* **2022**, *8*, 291. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
90. Oberbeckmann, S.; Labrenz, M. Marine Microbial Assemblages on Microplastics: Diversity, Adaptation, and Role in Degradation. *Annu. Rev. Mar. Sci.* **2020**, *12*, 209–232. [[CrossRef](#)]
91. Caruso, G. Microbial Colonization in Marine Environments: Overview of Current Knowledge and Emerging Research Topics. *J. Mar. Sci. Eng.* **2020**, *8*, 78. [[CrossRef](#)]
92. Jacquin, J.; Cheng, J.; Odobel, C.; Pandin, C.; Conan, P.; Pujo-Pay, M.; Barbe, V.; Meistertzheim, A.-L.; Ghiglione, J.-F. Microbial Ecotoxicology of Marine Plastic Debris: A Review on Colonization and Biodegradation by the “Plasticsphere”. *Front. Microbiol.* **2019**, *10*, 865. [[CrossRef](#)]
93. Miri, S.; Saini, R.; Davoodi, S.M.; Pulicharla, R.; Brar, S.K.; Magdouli, S. Biodegradation of Microplastics: Better Late than Never. *Chemosphere* **2022**, *286*, 131670. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## Supplementary Tables :

**Supplementary Table S1:** Summary of the information regarding samples and methods used in each PVC-dedicated study

Study	Site	PVC matrix	Immersion conditions (depth)	DNA extraction method (quantity of plastic used for DNA extraction)	Volume of seawater (control)
Pollet et al. 2018 [29]	Toulon	panels (5 x 5 cm)	subsurface (50cm-1m depth)	PowerBiofilm DNA isolation Kits (3 panels / time point)	Not sampled
Catao et al. 2021 [45]	Toulon Banyuls-sur-Mer Lorient Le Port	panels (5 x 5 cm)	subsurface (50cm-1m depth)	Power Soil DNA isolation kit (3 panels / time point)	2L
Lemonnier et al. 2020 [46]	Brest	pellets (Ø 4 mm)	subtidal or intertidal (water column or water-sediment interface)	phenol chloroform extraction (3 x 10 pellets / time point)	2L (not analyzed in this study)

**Table S2 :** Number of reads before and after processing, number of ASVs, and alpha diversity index values for each sample for the ITS2 dataset (natural settings)

Localisation	Environment	Samples	Incubation time (days)	Reads before processing	Reads after processing	ASV	Chao1	Shannon	InvSimpson	Pielou
Brest	PVC	BES_78_1	T7	200316	155453	22	22	1.74	4.99	0.56
		BES_78_2		132024	87190	32	32	2.13	7.36	0.61
		BES_186_1		69243	48273	72	72	3.51	22.07	0.82
		BES_186_2		183422	111725	128	128	3.29	14.25	0.68
		BES_186_3		66525	49751	85	85	3.27	16.13	0.74
	BES_81_3	T35	144692	102169	201	201	3.15	9.09	0.59	
	BES_69_3	T42	155292	147013	7	7	0.07	1.02	0.04	
	BES_72_3		137551	126513	18	18	0.89	1.80	0.31	
	BES_135_1	T63	101554	69318	256	256	3.74	11.26	0.67	

		BES_135_2		210322	127453	203	203	3.38	11.39	0.64
		BES_135_3		153089	117748	98	98	2.54	5.06	0.55
		BES_138_1		235780	129096	132	132	3.48	18.73	0.71
		BES_138_2		17711	11600	106	106	3.94	27.19	0.84
		BES_138_3		589225	151357	373	373	3.90	13.95	0.66
		BES_123_1	T70	77764	56897	80	80	3.30	19.46	0.75
		BES_123_2		143432	82321	156	156	3.16	13.94	0.63
		BES_123_3		135830	76063	86	86	2.99	9.25	0.67
		BES_126_1		95802	65406	82	82	3.13	10.27	0.71
		BES_126_2		171387	69227	146	146	3.64	24.75	0.73
		BES_126_3		71741	41607	249	249	3.80	15.43	0.69
		BES_192_1	T91	176643	91750	62	62	3.03	13.04	0.73
		BES_192_2		85195	52430	206	206	3.85	18.34	0.72
		BES_192_3		143001	93321	100	100	2.87	9.54	0.62
		BES_177_1	T98	162692	116231	49	49	2.78	12.98	0.72
		BES_177_2		129695	76749	38	38	2.62	10.06	0.72
		BES_177_3		219251	165504	86	86	2.83	11.30	0.64
		BES_180_1		115684	73404	98	98	3.42	12.45	0.75
		BES_180_2		222314	102015	126	126	3.01	7.48	0.62
		BES_180_3		120692	65941	79	79	3.45	18.98	0.79
		BES_222_1	T140	253990	99403	97	97	2.56	9.36	0.56
		BES_222_2		251710	163140	63	63	2.78	10.26	0.67
		BES_222_3		229332	146992	35	35	2.72	11.14	0.77
		BES_207_1	T147	64310	36863	50	50	2.83	9.24	0.72
		BES_207_2		246746	149854	148	148	3.42	10.83	0.68



		BES_207_3		209604	119174	50	50	3.04	10.40	0.78
		BES_210_1		169482	98596	151	151	3.85	26.58	0.77
		BES_210_2		208557	109374	119	119	3.12	10.01	0.65
		BES_210_3		136848	78339	181	181	3.65	16.45	0.70
Toulon	PVC	TLN_T1_1	T1	143040	79557	78	78	2.66	6.36	0.61
		TLN_T1_2		201550	122459	63	63	2.90	9.64	0.70
		TLN_T1_3		167204	98279	48	48	2.94	11.02	0.76
		TLN_T4_1	T4	193168	120382	162	162	3.67	17.02	0.72
		TLN_T4_2		152167	94211	78	78	3.42	19.09	0.78
		TLN_T4_3		199805	121734	73	73	3.54	23.13	0.83
		TLN_T8_1	T8	109357	62969	91	91	3.02	11.62	0.67
		TLN_T8_2		88462	54996	149	149	3.54	13.83	0.71
		TLN_T8_3		144780	93558	84	84	2.82	7.43	0.64
		TLN_T12_1	T12	201165	112588	70	70	3.07	11.93	0.72
		TLN_T12_2		216428	135835	80	80	2.93	8.36	0.67
		TLN_T12_3		151597	92392	103	103	3.35	13.62	0.72
		TLN_T20_1	T20	207736	135394	111	111	2.75	5.78	0.58
		TLN_T20_2		175009	91797	110	110	3.23	11.19	0.69
		TLN_T20_3		157513	87980	110	110	2.92	5.46	0.62
		TLN_T28_1	T28	158450	108063	50	50	2.21	4.21	0.56
		TLN_T28_2		146507	98462	59	59	2.41	4.51	0.59
		TLN_T28_3		201929	141508	58	58	2.35	4.84	0.58
		TLN_BIOP_1	T30	200787	126870	50	50	2.35	6.51	0.60
		TLN_BIOP_2		159262	94051	39	39	2.61	7.37	0.71
TLN_BIOP_3		199219	122106	87	87	3.33	15.52	0.75		

		TLN_T75_1	T75	168737	97947	173	173	4.29	34.59	0.83
		TLN_T75_2		167161	93658	231	231	3.65	8.98	0.67
		TLN_T75_3		192518	111284	248	248	4.08	14.11	0.74
		TLN_T365_1	T365	183257	122827	406	406	5.11	71.12	0.85
		TLN_T365_2		143293	86913	347	347	4.46	24.94	0.76
		TLN_T365_3		168497	110819	225	225	4.84	76.90	0.89
	Seawater	TLN_T0	T0	77967	41104	28	28	1.21	2.21	0.36
		TLN_T1	T10	81393	65974	16	16	0.93	2.19	0.33
		TLN_T2	T20	91315	49482	24	24	0.88	2.06	0.28
		TLN_T3	T30	100622	69350	22	22	1.18	2.97	0.38
Lorient	PVC	LRN_BIOP_1	T30	141546	52311	30	30	1.66	4.09	0.49
		LRN_BIOP_2		146319	75361	21	21	1.58	3.67	0.52
		LRN_BIOP_3		92272	50187	33	33	1.99	4.93	0.57
	Seawater	LRN_T0	T0	97228	76635	13	13	1.66	4.33	0.65
		LRN_T1	T10	91724	67355	17	17	2.15	5.43	0.76
		LRN_T2	T20	91992	59010	3	3	0.67	1.67	0.61
		LRN_T3	T30	87505	74035	16	16	0.27	1.09	0.10
Le Port	PVC	REU_BIOP_1	T30	107876	61521	18	18	2.01	6.42	0.69
		REU_BIOP_2		78571	39842	16	16	1.87	6.02	0.68
		REU_BIOP_3		77863	46923	29	29	1.82	4.78	0.54
	Seawater	REU_T0	T0	69252	47039	11	11	1.01	2.14	0.42
		REU_T1	T10	83449	67345	12	12	1.17	2.72	0.47
		REU_2	T20	85036	66438	16	16	0.76	2.04	0.27
		REU_T3	T30	86115	62812	5	5	0.17	1.08	0.11
	PVC	BSM_T75_1	T75	189003	107733	212	212	4.39	43.87	0.82

Banyuls-Sur- Mer		BSM_T75_2		128121	74570	132	132	3.98	29.38	0.81
		BSM_T75_3		196977	119803	155	155	4.11	30.76	0.81

**Table S3** : Number of reads before and after processing, number of ASVs, and alpha diversity index values for each sample for the 18S dataset (natural settings)

Localisation	Environment	Samples	Incubation time (days)	Reads before processing	Reads after processing	ASV	Chao1	Shannon	InvSimpson	Pielou
Brest	PVC	BES_78_1	T7	52117	37518	26	26	2,31	7,10	0,71
		BES_78_2		107345	64324	12	12	1,05	2,50	0,42
		BES_78_3		45999	35446	35	35	2,50	7,83	0,70
		BES_186_1		93043	61686	16	16	1,35	2,08	0,49
		BES_186_2		97597	64010	35	35	1,87	2,98	0,53
		BES_186_3		85616	54205	17	17	2,11	5,01	0,74
		BES_81_1	T35	163890	101377	19	19	2,06	5,55	0,70
		BES_81_2		59051	45948	28	28	2,13	5,65	0,64
		BES_81_3		63755	51330	32	32	2,44	6,95	0,70
		BES_69_1	T42	48415	41031	2	2	0,67	1,92	0,97
		BES_69_2		52180	37590	1	1	0,00	1,00	NA
		BES_69_3		58107	52689	1	1	0,00	1,00	NA
		BES_72_1		65663	52755	15	15	2,18	6,82	0,80
		BES_72_2		37286	32172	30	30	2,69	9,20	0,79
		BES_72_3		51531	43486	30	30	2,74	10,26	0,81
		BES_135_1	T63	80229	42443	28	28	2,64	9,12	0,79
		BES_135_2		180185	129093	32	32	3,06	16,42	0,88
		BES_135_3		142154	83882	16	16	2,17	6,77	0,78
	BES_138_1	191129		128715	26	26	2,68	9,99	0,82	

BES_138_2		141682	79712	31	31	2,61	8,82	0,76
BES_123_1	T70	117004	70513	23	23	2,37	8,31	0,76
BES_123_2		66388	50479	30	30	2,69	10,18	0,79
BES_123_3		63325	41740	39	39	3,12	15,50	0,85
BES_126_1		129134	80625	22	22	2,26	6,39	0,73
BES_126_2		95771	58636	25	25	1,89	3,75	0,59
BES_126_3		149330	87682	33	33	2,15	4,20	0,61
BES_192_1		T91	122135	65180	7	7	1,78	5,72
BES_192_2	145190		87249	21	21	1,85	4,44	0,61
BES_192_3	122371		78407	20	20	2,41	8,98	0,81
BES_177_1	T98	47651	29569	13	13	1,56	2,94	0,61
BES_177_2		85248	49891	11	11	2,06	7,26	0,86
BES_177_3		81771	51856	8	8	1,74	4,74	0,84
BES_180_1		96309	58190	23	23	2,24	5,24	0,72
BES_180_2		109233	71510	24	24	1,96	3,56	0,62
BES_180_3		91251	58699	21	21	2,11	4,20	0,69
BES_222_1	T140	126467	76056	17	17	2,10	6,05	0,74
BES_222_2		154936	101944	11	11	1,27	2,28	0,53
BES_222_3		114890	75281	7	7	1,07	2,07	0,55
BES_207_1	T147	87096	50484	7	7	1,14	2,17	0,58
BES_207_2		112400	70220	8	8	0,45	1,23	0,21
BES_207_3		114806	70037	9	9	1,09	1,85	0,49
BES_210_1		89237	53171	40	40	2,81	10,42	0,76
BES_210_2		107606	69039	20	20	1,55	2,39	0,52
BES_210_3		145620	89600	25	25	1,16	1,80	0,36

Toulon	PVC	TLN_T1_1	T1	122336	79288	39	39	2,14	3,49	0,58
		TLN_T1_2		131120	90689	38	38	1,60	2,15	0,44
		TLN_T1_3		93798	62638	43	43	2,35	3,96	0,62
		TLN_T4_1	T4	91189	55655	77	80	2,71	4,60	0,62
		TLN_T4_2		103676	64550	54	54	2,81	8,78	0,71
		TLN_T4_3		91124	59791	45	45	2,90	10,40	0,76
		TLN_T8_1	T8	127417	90676	51	51	2,81	6,77	0,71
		TLN_T8_2		121242	81847	37	37	2,69	7,99	0,74
		TLN_T8_3		112391	73711	48	48	2,76	8,54	0,71
		TLN_T12_1	T12	309799	154995	37	37	2,52	5,95	0,70
		TLN_T12_2		102591	69456	42	42	2,94	11,65	0,79
		TLN_T12_3		116231	75915	65	66	3,09	10,21	0,74
		TLN_T20_1	T20	82674	58816	65	65	3,35	15,91	0,80
		TLN_T20_2		106595	68623	51	51	2,83	7,60	0,72
		TLN_T20_3		86081	55113	66	66	3,07	9,32	0,73
		TLN_T28_1	T28	112026	71163	48	48.33	3,10	14,18	0,80
		TLN_T28_2		99802	66936	46	46	2,97	11,62	0,78
		TLN_T28_3		85176	56948	42	42	2,69	8,08	0,72
		TLN_BIOP_1	T30	104042	68402	18	18	2,33	6,55	0,81
		TLN_BIOP_2		68220	47146	35	35	2,82	10,11	0,79
		TLN_BIOP_3		648640	379158	47	47	2,97	11,24	0,77
		TLN_T75_1	T75	107195	61007	96	96	3,65	22,26	0,80
		TLN_T75_2		106717	71004	110	110	3,42	14,19	0,73
		TLN_T75_3		103211	58070	114	114	3,65	21,56	0,77
		TLN_T365_1	T365	93240	67616	147	147.6	4,06	26,48	0,81

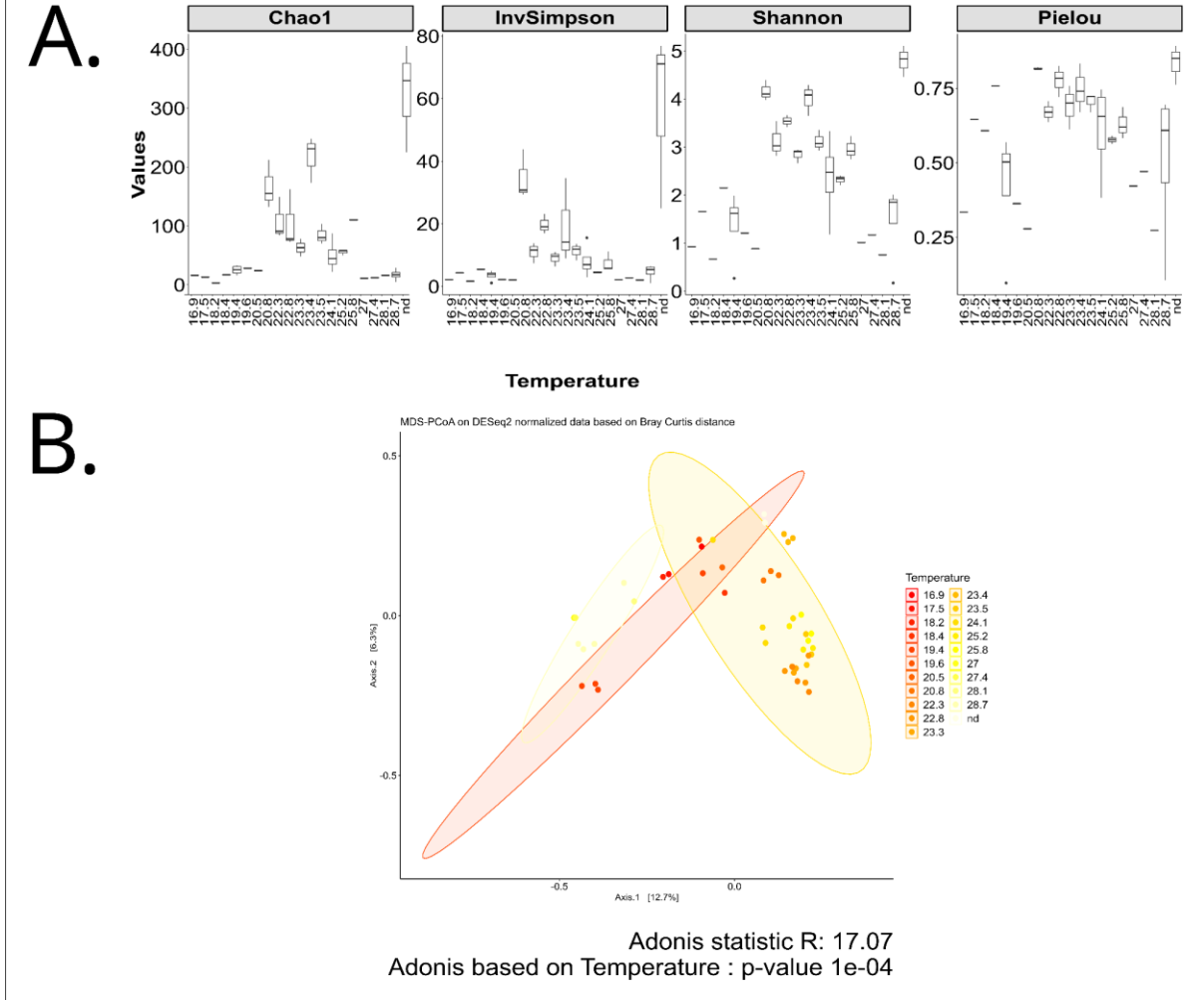
		TLN_T365_2		92818	55096	134	144	3,86	23,82	0,79
		TLN_T365_3		141068	90068	119	119	4,01	29,82	0,84
	Seawater	TLN_T0	T0	116525	87328	NA	NA	NA	NA	NA
		TLN_T1	T10	102631	79387	NA	NA	NA	NA	NA
		TLN_T2	T20	106545	83494	NA	NA	NA	NA	NA
		TLN_T3	T30	118170	82399	3	3	0,65	1,58	0,59
Lorient	PVC	LRN_BIOP_1	T30	118157	83120	7	7	1,20	2,56	0,62
		LRN_BIOP_2		96121	63207	11	11	1,66	4,06	0,69
		LRN_BIOP_3		103101	67343	5	5	1,36	3,45	0,85
	Seawater	LRN_T0	T0	81825	59922	NA	NA	NA	NA	NA
		LRN_T1	T10	98374	73757	2	2	0,41	1,32	0,59
		LRN_T2	T20	102562	87275	5	5	1,20	2,87	0,75
		LRN_T3	T30	75181	51413	NA	NA	NA	NA	NA
Le Port	PVC	REU_BIOP_1	T30	165835	149532	9	9	1,67	3,87	0,76
		REU_BIOP_2		106499	98487	10	10	2,15	7,51	0,93
		REU_BIOP_3		127327	116340	6	6	1,71	5,15	0,95
	Seawater	REU_T0	T0	94914	79756	1	1	0,00	1,00	NA
		REU_T1	T10	118265	92241	2	2	0,33	1,22	0,47
		REU_2	T20	80458	62184	3	3	0,40	1,26	0,36
		REU_T3	T30	113116	93244	4	5	0,53	1,38	0,38
Banyuls-Sur-Mer	PVC	BSM_T75_1	T75	86450	51671	75	75	3,26	12,42	0,76
		BSM_T75_2		93422	57648	75	75	3,25	11,29	0,75
		BSM_T75_3		94721	68121	79	79.5	3,25	10,76	0,74

**Table S4:** Number of reads before and after processing, number of ASVs, and alpha diversity index values for each sample for the ITS dataset (controlled conditions)

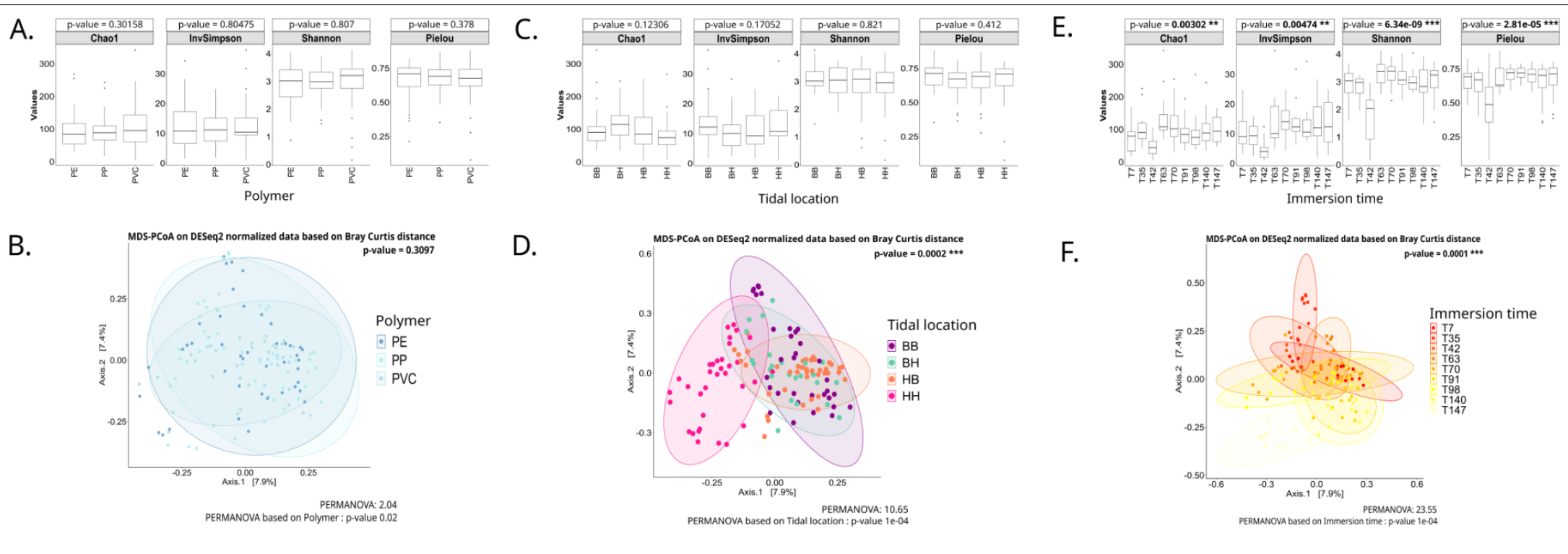
Samples		Incubation time (days)	Reads before processing	Reads after processing	ASV	Chao1	Shannon	Simpson	Pielou
Conventional polymers	PEO	3	17701	4747	9	9	1.35	2.86	0.62
		10	12220	4302	8	8	1.77	4.87	0.85
		31	17665	7787	9	9	1.54	3.12	0.70
		74	13949	5741	4	4	0.76	1.59	0.55
		116	50381	20520	14	14	1.06	1.67	0.40
		206	17271	8026	7	7	1.23	2.63	0.63
	PE-OXO	3	32170	11639	5	5	1.09	2.44	0.68
		10	40073	15809	5	5	0.68	1.57	0.43
		31	36633	12699	8	8	1.58	3.88	0.76
		74	19429	8295	18	18	1.47	2.81	0.51
		116	13355	8909	10	10	1.55	3.40	0.67
		206	208610	1383	5	5	0.60	1.36	0.38
Biodegradable polymers	PCL	3	77772	38166	9	9	0.93	1.98	0.42
		10	36928	18004	8	8	0.60	1.30	0.29
		31	26335	13137	5	5	1.22	2.57	0.76
		74	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		116	50838	15500	5	5	0.57	1.39	0.35
		206	26636	17306	1	1	0	1	NA
	PHBV	3	46223	22825	9	9	1.53	3.64	0.69

		10	35127	28275	2	2	0.30	1.20	0.44
		31	33155	15496	6	6	0.88	2.16	0.49
		74	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		116	33194	13852	9	9	1.54	3.97	0.70
		206	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<b>Control</b>	Sea water	3	18156	9313	25	25	2.10	4.94	0.65
		10	16875	5699	14	14	2.18	6.92	0.83
		31	179093	69	5	5	2.10	4.94	0.65



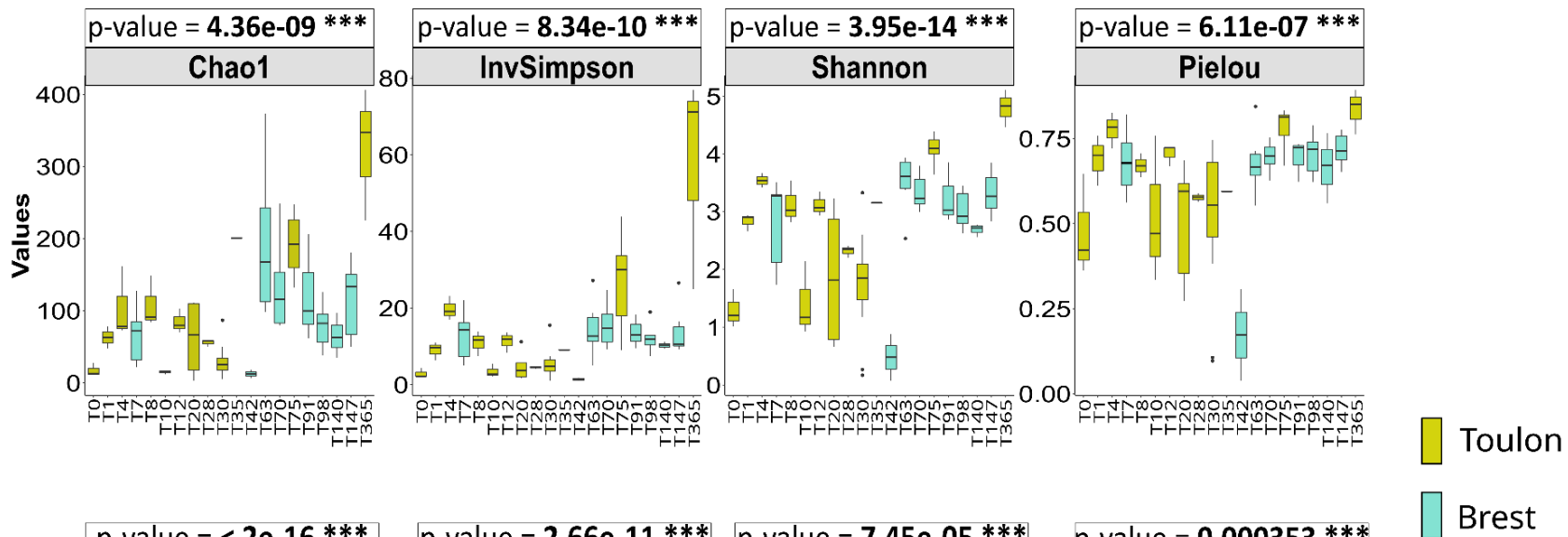


**Supp. Figure S1:** Significance of alpha diversity indices for the variable (A) "Temperature". (B) PCoA demonstrating the relationship between fungal community composition similarity and the variable "Temperature" based on the ITS dataset in Toulon (temperature range between 16.9 and 25.2°C), Banyuls-sur-mer (temperature of 20.8°C), Lorient (temperature range between 17.5 and 19.4°C) and Le Port (temperature range between 27.0 and 28.7°C).

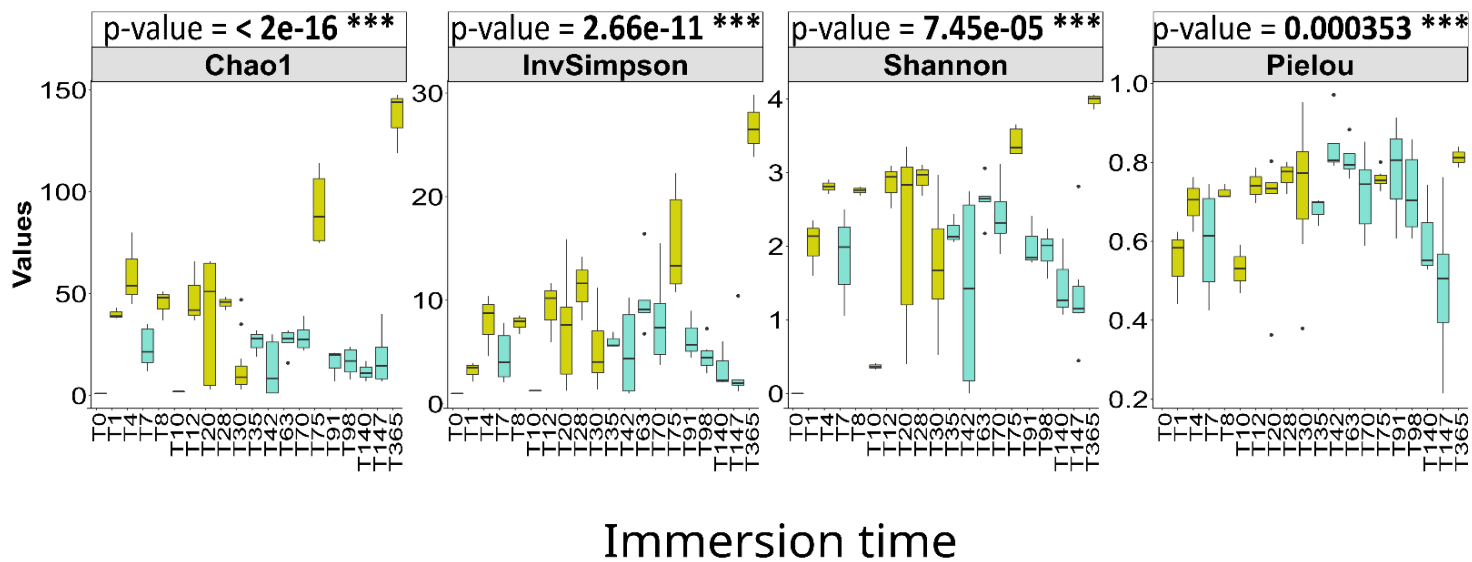


**Supp. Figure S2:** Significance of alpha diversity indices for the variables (A) "Polymers", (C) "Tidal location", and (E) "Immersion time". PCoA demonstrating the relationship between fungal community composition similarity and the variables (B) "Polymers", (D) "Tidal location", and (F) "Immersion time" (days) based on the ITS dataset in Brest. **Meaning of tidal location acronyms:** BB (Subtidal water-sediment interface), BH (Subtidal water surface), HB (Intertidal water-sediment interface) and HH (Intertidal water column).

A.



B.



Supp. Figure S3 : Alpha diversity indices and their associated significance, based on the ITS2 (A) and the V4 hypervariable region of the 18S rRNA gene (B) datasets for the variable “Immersion time” (days).





Chapitre II- Colonisation et potentiel de biodégradation des communautés fongiques sur le polystyrène immergé par rapport aux plastiques biodégradables : Une étude de séries temporelles dans l'environnement d'une marina



## I- Préambule

Comme décrit précédemment, la pollution plastique a émergé comme l'une des problématiques environnementales les plus préoccupantes de notre époque, représentant un des marqueurs de l'Anthropocène. La littérature laisse entrevoir un potentiel prometteur pour certaines espèces microbiennes, et notamment fongiques en termes de capacité d'utilisation de polymères plastiques comme source de carbone.

Dans ce cadre, une compréhension plus approfondie des micro-organismes fongiques aptes à coloniser et éventuellement à dégrader ces polymères plastiques revêt un intérêt manifeste. En collaboration avec le CEDRE (Centre de Documentation, de Recherche et d'Expérimentations et Expertise en Pollutions Accidentelles des Eaux), une expérimentation a été menée dans la Marina du Port de Brest. Cette expérience s'est étalée sur 9 semaines, avec des prélèvements effectués toutes les 3 semaines. A chaque prélèvement, des échantillons de polystyrènes conventionnels et de plastiques "nouvelle génération" biodégradables ont été collectés, ainsi qu'un témoin d'eau de mer environnante.

Cette étude avait pour objectifs (i) d'explorer la diversité fongique associée aux polymères biodégradables et non biodégradables et également comparativement à la diversité fongique dans l'eau de mer environnante, dans la Marina du Port de Brest en tant que site modèle, (ii) d'étudier la dynamique de colonisation des communautés fongiques sur une période d'immersion de 9 semaines, et (iii) d'analyser le potentiel de biodégradation de la plastisphère fongique à utiliser les polymères plastiques comme sources de carbone.

Pour ce faire, au laboratoire, chaque échantillon a été divisé en deux : (i) une moitié en vue des analyses de métagénomique par séquençage metabarcoding ciblant la région hypervariable V4 du gène 18S de l'ARNr et (ii) une autre moitié en vue d'analyses culturales où un plan expérimental conséquent (4 milieux de culture, supplémentés ou non avec différents polymères, à 2 températures (15 et 25°C), avec/sans antibiotiques, amenant à 112 conditions de culture différentes par échantillon) a été mis en place pour générer une collection d'isolats fongiques la plus exhaustive possible.



Les résultats de metabarcoding ont révélé l'absence de différence significative entre les communautés fongiques associées aux plastiques conventionnels et biodégradables, bien que des différences significatives aient été observées entre polymères seuls (par exemple, PLA vs PSE-PI). Une dynamique de colonisation a également été mise en évidence entre la structure des communautés fongiques collectées lors du premier prélèvement (T1) et celles collectées lors du dernier prélèvement (T3).

L'approche culturale a conduit à l'obtention d'une collection de 2570 isolats fongiques, dont 300 ont été criblés pour mettre en évidence leur capacité d'utilisation de polymères comme source de carbone. Six isolats fongiques, dont quatre affiliés au genre *Penicillium*, ont démontré leurs capacités à utiliser les plastiques comme source de carbone. Nos recherches semblent mettre en lumière l'émergence taxonomiquement originale d'un isolat, identifié comme appartenant au genre *Penicillium*, cultivé sur un milieu supplémenté en PHBV et démontrant une aptitude à utiliser le PHBV comme source carbonée. Un autre isolat, identifié comme *Gliomastix murorum* et cultivé dans un milieu supplémenté en PS, montre potentiellement une capacité à utiliser le PCL et le PET, mais aussi le PS comme sources de carbone. Des similitudes apparaissent entre les capacités de biodégradation des espèces fongiques mises en évidence et les polymères à partir desquels elles ont été isolées bien que d'autres espèces aient révélé des schémas contrastés. De plus, l'identification d'*Aspergillus fumigatus*, ayant des capacités de dégradation des plastiques et connu comme un pathogène opportuniste, amène à se questionner sur les profils stochastiques ou déterministes des champignons colonisateurs. Ces résultats ouvrent ainsi la voie à des processus prometteurs de biodégradation dans les écosystèmes marins. Cette recherche souligne donc l'importance des communautés fongiques dans la dégradation des plastiques dans la plastisphère marine, plaidant en faveur d'une étude plus approfondie des mécanismes de biodégradation fongique associés.



## **II- Article scientifique à soumettre dans le journal *Journal of Fungi***

**Philippe, A.**, Salaun, M., Quémener, M., Noël, C., Tallec, K., Cassone, A-L., Lacroix, C., Coton, E. & Burgaud, G. (*in prep.*). Colonization and Biodegradation Potential of Fungal Communities on Immersed Polystyrene vs. Biodegradable Plastics: A Time Series Study in a Marina Environment.

# Colonization and Biodegradation Potential of Fungal Communities on Immersed Polystyrene vs. Biodegradable Plastics: A Time Series Study in a Marina Environment

**Authors :** Aurélie Philippe<sup>1</sup>, Marie Salaun<sup>1</sup>, Maxence Quemener<sup>1</sup>, Cyril Noël<sup>2</sup>, Kévin Tallec<sup>3</sup>, Camille Lacroix<sup>3</sup>, Emmanuel Coton<sup>1</sup>, Gaëtan Burgaud<sup>1,4\*</sup>

## **Affiliations :**

<sup>1</sup>Univ Brest, INRAE, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Écologie Microbienne, F-29280 Plouzané, France

<sup>2</sup>Ifremer, IRSI, SeBiMER Service de Bioinformatique de l'Ifremer, F-29280 Plouzané, France

<sup>3</sup>CEDRE Centre de Documentation, de Recherche et d'Expérimentations sur les Pollutions Accidentelles des Eaux, 715 Rue Alain Colas, CS 41836, 29218 Brest Cedex 2, France

<sup>4</sup>Institut Universitaire de France

**\*Corresponding author:** Gaëtan Burgaud; [gaetan.burgaud@univ-brest.fr](mailto:gaetan.burgaud@univ-brest.fr)

**Keywords :** Fungal plastisphere, foamed polystyrene, diversity, colonization dynamics, bioremediation potential

## **Abstract**

Plastic pollution of the ocean is a major environmental threat. In this context, a better understanding of the microorganisms able to colonize and potentially degrade these pollutants is of interest. This study explores the colonization and biodegradation potential of fungal communities on foamed polystyrene and biodegradable plastics immersed in a marina environment over time, using the Brest marina (France) as a model site. The methodology involved a combination of high-throughput 18S rRNA gene amplicon sequencing to investigate fungal taxa associated with plastics compared to the surrounding seawater, and a culture-dependent approach to isolate environmentally relevant fungi to further assess their capabilities to utilize polymers as carbon sources. Metabarcoding results highlighted the significant diversity of fungal communities associated with both foamed polystyrene and biodegradable plastics, revealing a dynamic colonization process influenced by the type of polymer and immersion time. Notably, the research suggests a potential for certain fungal species to utilize polymers as a carbon source and thus emphasizing the need for further exploration of fungal biodegradation potential and mechanisms.

## 1. Introduction

The global plastic production has exhibited an exponential pattern since 1950, now reaching ~391 million tons (Mt) per year (Plastics Europe 2022). Plastics are versatile materials, prized for their numerous attributes, including resistance, durability, malleability, and cost-effectiveness (Andrady & Neal 2009). However, their extensive utilization results in the generation of substantial quantities of unmanaged waste. Out of the 8,300 Mt of plastic waste generated between the years 1950 and 2015, ~9% underwent recycling, while ~12% were incinerated, and the remaining ~79% were deposited in landfills or natural environments (Geyer *et al.* 2017).

Oceans represent the final recipients of mismanaged plastic waste with an annual flux estimated as 9-14 Mt per year (Lau *et al.* 2020). Thermoplastic materials, including polyethylene (PE), polypropylene (PP), polyvinyl chloride (PVC), polystyrene (PS), nylon, and polyethylene terephthalate (PET), collectively account for ~90% of the global plastics produced (Porta 2021) and thus those that are mostly encountered as debris in the marine environment (Erni-Cassola *et al.* 2019). PS accounts for ~6% of Europe's plastic production but a substantial >60% in terms of volume (Plastics Europe 2022). Among the different types of PS, expanded polystyrene (EPS) and extruded polystyrene (XPS), which both constitute foamed materials with several qualities (e.g. high mechanical compressive strength, insulation properties) consequently find extensive usage in various sectors, ranging from packaging and leisure to aquaculture/fishing and construction (Turner 2020). EPS and XPS litter are frequently encountered in marine ecosystems. Between 2018 and 2020, in OSPAR countries actively monitoring foamed polystyrenes, including Denmark, the Netherlands, Germany, France, Ireland, and Portugal, EPS and XPS pollution constituted 15% of the total number of plastics and 13% of the overall litter found on beaches (Lacroix *et al.* 2022), raising significant environmental concern.

Over the last decade, microbial communities inhabiting marine plastic debris (MPD), commonly referred to as the 'Plastisphere' have garnered significant scientific attention. These communities are characterized by their distinct diversity and unique composition when compared to those residing in the surrounding seawater. Microbial biofilms associated

with MPD are believed to host an estimated 1,000 to 15,000 tons of microorganisms (Mincer *et al.* 2016), a number that may well be conservative, given recent estimates of oceanic microplastic counts in the upper ocean, that have been reassessed from 5 trillion pieces (Eriksen *et al.* 2014) to 24.4 trillion pieces (Isobe *et al.* 2021). Numerous studies have targeted microorganisms from all three domains of life that are linked to MPD, aiming to understand their colonization potential. These investigations have revealed a rapid, well-organized, and dynamic colonization process when plastic materials are immersed in marine environments (Agostini *et al.* 2021; Harrison *et al.* 2014; Latva *et al.* 2022; Woodall *et al.* 2018; Wright *et al.* 2020). The majority of studies have concentrated on the bacterial component, with a relatively limited exploration of microeukaryotic communities, particularly the fungal ones (De Tender *et al.* 2017; Debroas *et al.* 2017b; Florio Furno *et al.* 2022; Kettner *et al.* 2017, 2019; Kirstein *et al.* 2018; Lacerda *et al.* 2020, 2022; Oberbeckmann *et al.* 2016; Philippe *et al.* 2023; Sérvulo *et al.* 2023; Yang *et al.* 2022). From these investigations, relatively convergent patterns were observed with (i) the geographical locations and inherent environmental factors exerting a more substantial influence on fungal colonization than the polymeric composition of plastic material, (ii) the polymeric composition within a specific type of plastic (conventional or biodegradable) that does not significantly affect richness or community composition, except in rare cases (Yang *et al.* 2023), and (iii) the significant impact of immersion duration on fungal colonization, except in rare cases (Sérvulo *et al.* 2023). In terms of taxonomic diversity, Ascomycota predominates in plastic-associated fungal communities. Additionally, various other fungal phyla, including Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota, Mucoromycota, Zoopagomycota, and Cryptomycota, have also been detected (De Tender *et al.* 2017; Lacerda *et al.* 2020, 2022; Philippe *et al.* 2023; Sérvulo *et al.* 2023; Zeghal *et al.* 2021), a taxonomic distribution that aligns with the general pattern of marine fungal diversity (Jones *et al.* 2019). To date, if some studies have conducted works on PS collected from the sea (Debroas *et al.* 2017b; Lacerda *et al.* 2020, 2022), or immersed and collected at a single time point (Kettner *et al.* 2017, 2019; Kirstein *et al.* 2018; Yang *et al.* 2022), a notable knowledge gap remains, as there has been no investigation conducted on the immersion and collection of PS at multiple time points.

Although more than 400 microbial species have been identified as capable of degrading plastic polymers, evidence of their ability to break down commonly used polymers, such as

PP, PS, and PVC, must be viewed with caution (Lear *et al.* 2021), most studies failing to differentiate whether the loss of material results from substance leakage such as additives and fillers, or effective degradation of polymer's building blocks. Among the species documented for their plastic degradation potential, a large majority, accounting for 65.6% of all identified species, are bacteria, encompassing 286 distinct species. These bacteria are categorized within five phyla, specifically Proteobacteria (30.4%), Actinobacteria (20.3%), Bacillota (13.8%), Bacteroidota (0.69%), and Cyanobacteria (0.46%). Regarding fungal organisms capable of plastic degradation, 150 species, constituting 34.4% of the total identified species, are distributed across three fungal phyla: Ascomycota (27.0%), Basidiomycota (4.4%), and Mucoromycota (3.0%). Despite the significance of polystyrene (PS) in the global production of plastics, there appears to be a dearth of organisms identified thus far with the capability to degrade this high-molecular-weight polymer. PS has been reported to be subject to degradation by 14 bacterial species, primarily belonging to the Bacillales order, and one fungal species (*Talaromyces variabilis*) (Gambarini *et al.* 2021). Recently, various fungal species, such as *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Trichoderma* sp., *Aureobasidium* sp., *Penicillium* sp., and *Curvularia* sp. (Zhang *et al.* 2022), together with *Mucor* sp., *Cephalosporium* sp., *Mortierella* sp., *Geomyces* sp., and *Phaenerochaete chysosporium* (Dong *et al.* 2024) were shown to exhibit PS degradation capabilities through weight loss, FTIR spectroscopy and microscopic examinations. It should be noted, however, that their degradation capabilities, when indicated, appeared low, usually <5 %, and that none of the listed putative PS-degraders were isolated from the marine environment.

These findings illuminate emerging trends regarding distribution and biodegradation patterns of plastic-associated fungi, raising first insights into the comprehensive understanding of fungal colonization on plastics along with their real biodegradation potential. Here, we aimed to address a knowledge gap, particularly regarding the colonization potential of fungal communities on immersed PS-type plastics over a time series in the marina of Brest (Brittany, France), in comparison to other plastics, specifically biodegradable alternatives. In this study, 6 different polymers, i.e. 3 foamed PS and 3 biodegradable, were collected after three, six and nine weeks of immersion, and associated fungal communities were analyzed using (i) high-throughput 18S rRNA gene amplicon sequencing, to investigate taxa associated to plastics and to the surrounding seawater, and



the influence of the polymeric nature on the composition and structure of the fungal communities, and (ii) culturing and screening approaches to isolate environmentally relevant fungi and assess their abilities to utilize different kind of polymers as carbon source.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Immersion experiments

A field experiment was conducted in the Marina du Château in Brest (France) (48°22'49.6"N, 4°29'21.6"W) from June to August 2021. Pieces of six different plastic materials were immersed in stainless cages in triplicate and exposed to the natural aquatic environment. The experiment was performed over a time series of 9 weeks with 3 sampling time points (after three, six and nine weeks of immersion). Plastic materials corresponded to three foamed PS, including 2 expanded PS (PSE-CP and PSE-PI) and one extruded one (PSX-BA) as well as three biodegradable alternatives, namely Polylactic acid (PLA), Poly(lactic acid + Polybutylene Adipate terephthalate) (PLA/PBAT) and Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBH). Each type of plastic is defined by distinct characteristics, including: (i) biodegradability, (ii) ability to absorb organic pollutants, such as PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) and PCBs (Polychlorinated Biphenyls), and (iii) the extent of its toxic impact on marine life, specifically in terms of cytological, genotoxic, and reprotoxic effects (**Supplementary table 1**). All plastic materials were cut to similar dimensions (4.25 x 3 cm) and thickness (0.65 cm). Additionally, water samples were retrieved at each time point for (i) temperature, salinity and pH determination, and (ii) comparison of the fungal communities on the plastic substrates with the natural communities in the surrounding seawater. Water samples (1 liter) were filtered on sterile 0.22 µm cellulose nitrate filters (Sartorius Stedim Biotech GmbH, Germany). A total of 54 plastic pieces were collected along with 3 surrounding seawater samples (1 per sampling time point). After sampling, plastics were rinsed with sterile station water and stored at 4°C in sterile Falcon tubes before processing in less than 3 hours. . Each plastic piece was then divided into two parts under a laminary flow hood, one half was stored at -80°C until further processing for DNA extraction while the other half was immersed in 10 ml of sterile station water and stored at 4°C for culture analysis.

## 2.2. Culture-independent approach

### 2.2.1. DNA extraction, amplification and sequencing

Sterile DNA extraction was performed from the 54 sampled plastic materials (2 cm<sup>2</sup> piece) and 3 surrounding seawater samples (entire 0.22 µm filter). DNA extraction was carried out using the FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals), following the manufacturer's instructions. Concentration of extracted DNA was measured with a NanoDrop 1000 Spectrophotometer (Thermo-Scientific). Two negative controls (reaction mixture without DNA) were included to ensure that no contamination with exogenous amplifiable DNA occurred during the different stages of sample treatment. Semi-nested PCR amplifications of the V4 region of the 18S rRNA gene were performed using the obtained DNA extracts as templates. The nu-ssu-0817 (5'-TTAGCATGGAATAATRAATAGGA-3') and nu-ssu-1536 (5'-ATTGCAATGCYCTATCCCCA-3') primers were used for the first PCR while the nu-ssu-0817/nu-ssu-1196 (5'-TCTGGACCTGGTGAGTTTCC-3') primer couple was used for the second amplification as described by Philippe *et al.* (2023). PCR products were visualized by agarose gel electrophoresis and then iTAG sequenced at Genome Quebec using Illumina MiSeq PE300.

### 2.2.2. Bioinformatics and Statistical Analyses

Raw data were analyzed using the SAMBA v4.0.0, a standardized and automated metabarcoding analysis workflow (<https://gitlab.ifremer.fr/bioinfo/workflows/samba>, accessed on 19/12/2023) (Noel *et al.* 2021). The workflow comprises three main components: data integrity checking, bioinformatics processes and statistical analyses. QIIME 2 (Bolyen *et al.* 2019) and DADA2 (Divisive Amplicon Denoising Algorithm) (Callahan *et al.*, 2016) with parameters optimised by FIGARO (Sasada *et al.* 2020). Initial processing involved raw data filtering, including primer removal and elimination of reads with incomplete or incorrect primer sequences, using Cutadapt V4.6. (Martin 2011). The Amplicon Sequence Variants (ASV) clustering method was applied through DADA2, involving quality filtering, sequencing error correction, pairwise read merging, inference of sample ASVs and chimera identification.

The primary objective of this initial stage was to assess data quality by optimizing parameters for trimming reads in microbiome analysis to enhance information extraction from post-trimming sequences, utilizing the FIGARO tool V1.1.2. (Sasada *et al.* 2020). To mitigate potential diversity overestimation inherent in DADA2, an additional step of ASV clustering was performed using dbOTU3 V1.5.3. (Olesen *et al.* 2017). Subsequently, the resulting ASVs underwent taxonomic assignment through a Naive Bayesian approach against the PR2 V5.0.1. database (Guillou *et al.* 2013). In alignment with the approach recommended by McMurdie & Holmes (2014), the DESeq2 method was chosen as an alternative to rarefaction for data normalization. Moreover, the Analysis of Composition of Microbiomes (ANCOM-BC) statistical framework was employed to compare microbiome compositions. The SAMBA workflow generated an R phyloseq object, used for all diversity analyses (R Version 4.3.2). To assess intra-specific diversity, four diversity indices (Chao1, Shannon, Simpson's inverse and Pielou) were calculated. For examining inter-specific differences among samples, beta diversity analysis was conducted using ordination method (Principal Coordinate Analysis - PCoA).

### 2.3. Culture-dependent approach

Four distinct media, namely Martin Rose Agar (M), Sabouraud-Dextrose (SAB), Potato Dextrose Agar (PDA) and Czapeck (CZP), were employed for filamentous fungi and yeast isolation. These media were formulated with and without 10 g.L<sup>-1</sup> of six different plastic powders (PS, PE, PET, PVC, PCL, and PHBV, and with or without antibiotics (chloramphenicol and streptomycin at 20mg.ml<sup>-1</sup>, respectively). The four conventional polymers supplemented corresponded to polystyrene beads (900 µm size, Goodfellow Cambridge Limited, Huntingdon, England, ST31-PD-000103), low-Density Polyethylene powder (300 µm size, Goodfellow, ET31-PD-000131), Polyethylene Terephthalate powder (300 µm size, semi-crystalline and copolymer, crystallinity > 40%, Goodfellow, ES306031) and unplasticized polyvinyl chloride flakes (250 µm size, Goodfellow, CV316010). The two biodegradable polymers corresponded to polycaprolactone flakes (Powdered Polysciences, inc., Warrington, England, 25090-100) and polyhydroxybutyrate/ polyhydroxyvalerate 1% biopolymer powder (300 µm size, 490 kg/mol MW, Goodfellow, BV34-PD-000130). Before being supplemented in the different culture media, plastic polymers underwent disinfection

in a 70% ethanol bath for 4 hours with agitation. Subsequently, ethanol was evaporated using a water bath at 80°C for 20 minutes for all plastic polymers, except for PCL, which was treated at 45°C to prevent the aggregation of plastic particles. Incubation was conducted at 15 and 25°C, representing the average optimal temperature range for a wide array of fungal species. Overall, this experimental design included 112 different conditions per sample, resulting in a total of 6,384 Petri dishes in order to capture the widest possible representation of *in situ* fungi.

A cell-detachment procedure involving a 3 x 5 s sonication step at 40 kHz using a sterilized probe was performed on collected plastic pieces, as described by Odobel *et al.* (2021), to detach cells from the plastic matrix. Cell suspensions served as inoculum on Petri dishes (10 µl / Petri dish) and were spread with sterile rakes before incubation. From each petri dish showing fungal growth, pure cultures were obtained by streaking (for yeasts) and central picking (for filamentous fungi) with similar culture conditions.

## 2.4. Screening for use of plastics as a source of carbon

### 2.4.1. Stratified and weighted random sampling

Given that our culturing approach yielded more than 2,000 fungal isolates, we implemented a stratified and weighted random sample strategy to select 300 isolates representative of the initial collection. Within each sampling time point, 100 isolates were subsampled based on their observed abundance in the original media supplemented with the 6 different polymers and the polymer-free control. To ensure a comprehensive representation, ten fungi growing without plastic in the medium were arbitrarily included among the 100 isolates. Subsequently, 90 isolates were randomly and proportionally selected from the compiled list using the *sample* function of the R studio software v.2023.09.0+463. All isolates were cultured on BH, a minimum medium, composed of magnesium sulfate (0.2 g.L<sup>-1</sup>), calcium chloride (0.02 g.L<sup>-1</sup>), potassium mono- and di-phosphate (1 g.L<sup>-1</sup>, respectively), ammonium nitrate (1 g g.L<sup>-1</sup>), and iron chloride (0.05 g.L<sup>-1</sup>). BH medium was supplemented with 15 g.L<sup>-1</sup> of artificial sea salts (Sodium chloride NaCl 26.29 g.L<sup>-1</sup>, Potassium chloride KCl 0.74 g.L<sup>-1</sup>,

Calcium chloride  $\text{CaCl}_2$   $0.99 \text{ g.L}^{-1}$ , Magnesium sulfate hexahydrate  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$   $6.09 \text{ g.L}^{-1}$  and Magnesium sulfate  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$   $3.94 \text{ g.L}^{-1}$ ).

Each of the 300 fungal isolates were first cultured on PDA solid media supplemented with artificial sea salts to check purity of each isolate. Once sufficient growth and spore production were achieved, various strategies were employed to obtain an inoculum, depending on whether the isolates were filamentous fungi or yeasts. For filamentous fungi, spores were obtained by extracting a plug from the thallus using a sterile 6 mm diameter hole punch. The biological material was then carefully separated from the agar with a sterile scalpel and suspended in 5 ml of Bushnell-Hass (BH, see composition above), as a minimal medium. Vigorous agitation (Rotolab, Maximum speed, 10 seconds) was applied to maximize spore detachment from the mycelium. The spore suspension was then diluted to  $1/10^{\text{th}}$  to achieve a concentration of approximately  $10^6$  spores/ml. As for yeasts, cells were collected by scraping the agar plate with a sterile disposable loop, which was filled to a quarter with yeast cells. The content was also suspended and mixed in 5 ml of BH medium, followed by vigorous agitation. Subsequently, yeast suspensions were also diluted to  $1/10^{\text{th}}$  to obtain a similar concentration of approximately  $10^6$  yeast cells/ml.

Two approaches were used in the frame of this screening step aiming to assess the ability of each isolate to utilize plastics as carbon sources: a solid-based approach using agar plates, and a liquid-based approach using a combination of laser nephelometry and OcelloScope.

#### 2.4.2. Solid-based screening

BH agar plates were supplemented with  $20 \text{ g.L}^{-1}$  of agar and the targeted disinfected plastic polymer as carbon source at a final concentration of  $10 \text{ g.L}^{-1}$ . To ensure the validity of our methodology, two controls were included, namely a positive control supplemented with glucose (Sigma Aldrich, 1.5% final concentration) and a negative one deprived of any carbon source (except the agar). The negative control was used to highlight the capacity of isolates to utilize agar as a carbon source and/or potential metabolic reserves, and/or to assess necromass utilization.

Each Petri dish was inoculated using the three-point method using 10  $\mu\text{L}$  suspension of spores or yeast cells at each point source inoculation. Each Petri dish was incubated at 25°C for 14 days, and growth was observed by capturing high-quality images every two days. Images were then analyzed using ImageJ (Schneider *et al.* 2012) for standardization and extraction of the area of each thallus (3 thallus per condition). An analysis was conducted to identify the most promising isolates using only data after 14 days of growth. To identify the most promising isolates, a highly stringent approach was implemented. Initially, a threshold was set to include isolates with relatively substantial mean areas (set arbitrarily at 200  $\text{mm}^2$ , representing ~20% of the petri dish or the maximal growth area in a 3 point inoculation) to exclude fungi with limited thallus size. Mean areas obtained from each minimal medium were then compared to those from each condition (BH+ either PE, PS, PET, PHBV, PCL, PVC) to select for isolates demonstrating superior growth capacity on polymer-supplemented media compared to minimal medium containing only agar. The selection of the most promising isolates from the solid-based approach was based on two criteria: (i) the highest mean areas and (ii) the highest ratio obtained by dividing the mean area for a specific polymer by the mean area of the positive control (*i.e.* with glucose).

#### 2.4.3. Liquid-based screening

Laser nephelometry was used as a mid/high-throughput device to evaluate fungal growth parameters by measuring light scattered by particles (unicellular and/or filamentous cells) in 96-wells microplates. For this approach, the BH medium was filtered using a 0.22  $\mu\text{m}$  diameter nitrocellulose filter to eliminate potential bias resulting from the presence of particles. To determine an appropriate plastic concentration without prematurely saturating the signal, an optimization step identified the concentrations leading to a nephelometric signal of ~300 to 500 kRNU (Relative Nephelometric Unit): 0.039% for PHBV, 0.15% for PET, 0.31% for PE and PVC, 0.62% for PCL, and 2.5% for PS, . Disinfected polymers were diluted with sterile distilled water (10 g/L) and dispensed into 96-well microplates. Plastic particles were then immobilized at the bottom of the wells through the incubation of the microplates at 85°C for 4 hours to create a thin layer at the bottom of each well. Once evaporation was complete, each well was filled with 180  $\mu\text{L}$  of BH medium, with or without glucose supplementation. Lastly, to prevent bacterial contamination, the microplates were treated with UV radiation for 40 minutes. Each well was then inoculated with 20  $\mu\text{L}$  suspension of

spore or yeast cells . The microplates were read daily for 14 days, using a laser nephelometer (NEPHELOstar Plus Nephelometer, BMG LABTECH, Germany). This approach was complemented with an OcelloScope (BioSense Solutions ApS, Denmark), which allows to generate microscopic images of each well. This double approach allowed an in-depth analysis of the growth potential of fungal isolates by combining quantitative information (number of fungal particles in each well using laser nephelometry) and qualitative data (microscopic images of each well using an OcelloScope). Throughout the experiment, the microplates were incubated à 25°C under a humid atmosphere. Data analysis was performed using the MatLab software with a Gompertz model approach which generated growth curves and determined growth parameters, such as maximum growth rate ( $\mu_{max}$ ) and maximum growth ( $R_{max}$ ). To identify the most promising isolates, a highly stringent approach was also implemented. Initially, a threshold was set to include isolates with relatively substantial nephelometric  $R_{max}$  values (set arbitrarily at 600,000 RNU, knowing that nephelometric values range from 0 to 2 million RNU) to exclude fungi with limited growth.  $\mu_{max}$  values were then compared to those of the minimal medium (without any carbon source) and only those exceeding the negative control were selected. The selection of the most promising isolates from the liquid-based approach was based on three criteria, namely the highest  $\mu_{max}$  and  $R_{max}$  values for each specific polymer-enriched condition, as well as the highest ratio obtained by dividing the  $\mu_{max}$  value of a specific polymer by the  $\mu_{max}$  value of the positive control.

Finally, the top 6 isolates, *i.e.* those that provide consistent data between the three approaches (solid-based, Laser Nephelometry and OcelloScope) and the highest growth and higher ratio both from the solid-based and liquid-based approaches, were selected. These most promising isolates are preserved in the UBO Culture Collection (Université de Bretagne Occidentale Culture Collection, <https://ubocc.bio-aware.com/>). All other fungal isolates are preserved as a laboratory collection.

## 2.5. Sanger sequencing

Several genetic markers were amplified and sequenced for taxonomic assignments of the six most promising fungal isolates, after DNA extraction using the KingFisher Duo Prime (Thermo Scientific). Using primer pairs ITS1F/ITS4, ACT512F/ACT783R, Bt2a/Bt2b, NL4/NL1,

polymerase chain reactions were used to amplify the rDNA internal transcribed spacer (ITS) region, the actin partial region (*act*), the partial beta-tubulin (*tub2*) gene and the D1-D2 domain of the 28S rRNA gene, respectively (**Supplementary table 2**). Contigs were generated using Geneious v. 11.0.18+10 (Biomatters Ltd.). Isolates were identified via nucleotide BLAST queries. Sequences obtained from isolates of interest can be accessed using accession numbers in the GenBank database (**Supplementary table 3**).

### 3. Results

#### 3.1. Fungal diversity detected by metabarcoding analysis

The 57 analyzed samples (54 plastic samples + 3 seawater controls) generated 91 fungal ASVs (when including the seawater samples) and 83 ASVs (when excluding the seawater samples). The alpha diversity was measured using the Chao1, Shannon, InvSimpson and Pielou indices (**Supplementary Table 4**). Overall, seawater exhibited the highest diversity values (10, 1.75, 4.6, and 0.76 for the Chao1, Shannon, InvSimpson, and Pielou indices, respectively). When compared to the diversity values of seawater, the diversity indices of PSE-PI appeared to be ~4 times lower, PHBH and PLA about 2.5 times lower, while PSX-BA, PBAT and PSE-CP were roughly 2 times lower.

Among all evaluated factors, *i.e.* 'type of polymer' (conventional or biodegradable), 'polymers' (the 6 immersed polymers), 'immersion time' (T1, T2, and T3), 'marine toxicity', and 'transfer of hazardous chemicals' (**Supplementary Table 1**), only the 'type of polymer' variable (for the Chao1 and InvSimpson indices) showed a significant difference between free fungal communities in seawater from those related to plastics (**Supplementary Figure 1A**). Using a Tukey HSD test followed by a Bonferroni adjustment, *p*-values were 0.03 for the Chao1 index between seawater and conventional plastics, and were 0.05 and 0.03 for the InvSimpson index between seawater and conventional plastics and between seawater and biodegradable plastics, respectively. Biodegradable plastics exhibited 45 unique ASVs, whereas conventional plastics had 26 unique ASVs, the surrounding seawater containing seven unique ASVs. Ten ASVs were common to both biodegradable and conventional plastics, two were shared between biodegradable plastics and the seawater and one was shared between conventional plastics and the seawater.



While diversity indices showed no significant difference among the six polymers for all tested metrics, a notable distinction was observed for the Chao1, Shannon and InvSimpson values between PSE-PI (**Supplementary Table 4**), which exhibited lower index values. This specific polymer displayed the highest value for marine toxicity (0.6) and the second highest value for the transfer of hazardous products (1) (**Supplementary Table 1**). Regarding marine toxicity, increasing values of this trait corresponded to a decrease in ASV numbers. Indeed, for the marine toxicity levels of 0 (PHBH), 0.1 (PLA and PLA-PBAT), 0.3 (PSE-CP), 0.4 (PSX-BA) and 0.6 (PSE-PI), the corresponding ASV counts were 17, 15 and 13, 11, 10, and 3, respectively. Linear regression was performed between ASV number and marine toxicity values, and revealed a highly significant impact ( $p$ -value = 0.001411), indicating that the higher the polymer toxicity is, the lower the fungal diversity is. The 'immersion time' variable (from T1 to T3) without seawater samples revealed no significant differences at the 5% risk threshold, even if an observable j-curve is evident for the Chao1, Shannon and InvSimpson indices, while an inverted j-curve is observable for the Pielou diversity index (**Supplementary Figure 1B.**). Caution is however warranted when interpreting these trends, suggesting a potential decrease in diversity followed by a stabilization over the immersion duration. T1 was characterized by 27 ASVs, T2 by 30 and T3 by 22. Among them, seven ASVs were shared between T1 and T2, while only two were shared between T2 and T3, suggesting a shift in fungal communities.

For beta-diversity, Principal Coordinate Analysis (PCoA) based on Bray-Curtis distances revealed a distinct separation in community composition among various conditions, as evidenced by statistically significant differences for the 'polymers' and 'immersion time' factors with  $p$ -values corresponding to 0.008 and 0.01 with seawater samples, and 0.008 and 0.002 without seawater samples, respectively (**Figure 1**). Fungal communities associated with plastics exhibited variations from those in the surrounding water. Using a Tukey HSD test followed by a Bonferroni adjustment,  $p$ -value was near to significance ( $p$ -value = 0.059) between conventional plastics and seawater (**Figure 1A**). This representation also underscores the increased dispersion observed in PSE-PI and PLA samples in comparison to the less expanded ellipses of other immersed polymers (PBAT, PHBH, PSE-CP, and PSX-BA). PLA exhibited the highest complexity in terms of community composition, while PSE-PI showed the lowest complexity as revealed. The 'immersion time' factor was also identified

as significant ( $p$ -value = 0.002), indicating clear differences in communities based on the duration of immersion (**Figure 1B**). Interestingly, a progressive reduction in ellipse sizes was observable from T1 (3 weeks of immersion) to T3 (9 weeks of immersion), fungal diversity being more important at T1 compared to both T2 and T3, and T2 exhibiting higher diversity than T3. A pairwise multilevel comparison using the R function *adonis* (package 'vegan') revealed a significant distinction between T1 and T3 ( $p$ -value = 0.047), without seawater samples.

Conversely, no statistically significant difference was discerned for the 'type of polymer' (conventional vs. biodegradable), 'marine toxicity', and 'transfer of hazardous chemicals' variables. When the seawater samples were not considered, a pairwise multilevel comparison using *adonis* revealed a significant distinction between PLA and PSE-PI ( $p$ -value = 0.029), as well as between PLA and PSX-BA ( $p$ -value = 0.044), between PLA and PHBH ( $p$ -value = 0.015) or close to significance between PLA and PSE-CP ( $p$ -value = 0.055) and between PLA and PBAT ( $p$ -value = 0.054).

Bubble plots were employed to illustrate taxonomic diversity at the phylum and genus levels for the 'polymers' and 'type of polymer' factors (**Figure 2**). The Ascomycota, Basidiomycota, and Chytridiomycota phyla were prevalent across all conditions, appearing on both conventional and biodegradable plastics (Figure 2A.). Globally, Ascomycota accounted for 73.37%, Basidiomycota for 15.05%, Chytridiomycota for 11.87%, and Zoopagomycota for 0.72% of the observed fungal diversity. PBAT and PSX-BA specifically supported ASVs affiliated to Ascomycota and Basidiomycota, while PLA was associated with ASVs affiliated to Ascomycota and Chytridiomycota (Figure 2B.). Zoopagomycota appeared exclusively on conventional plastics. Ascomycota was the most abundant phylum across polymer types, except in PLA and seawater, for which Chytridiomycota was the dominant phylum with 6.53% and 2.09% prevalence, respectively. PLA and PSE-PI were similar in that neither harbored Basidiomycota ASVs. Overall, conventional plastics exhibited a greater diversity of phyla (49.96%) compared to biodegradable plastics (46.26%), seawater showing the least diversity at 3.77%.

Among the top 10 genera, *Cladosporium* appeared as the most abundant on plastics, showing varying abundance depending on the considered samplotype, with 11.84% on

conventional plastics, 6.17% on biodegradable plastics, and almost absent on surrounding seawater (Figure 2C.). The *Didymella* genus was the next most abundant, with 11.18% on biodegradable plastics and 1.98% on conventional ones. Representatives of the order Chytridiales and the genus *Fusarium* showed some preferences, with 6.53% on PLA, and 6.05% on PSE-CP, respectively (Figure 2D.).

Immersion time significantly influenced phyla abundance (Figure 3). Relative abundance decreased over time, with T1 representing 46.56%, followed by T2 at 33.90%, and T3 at 19.54%. Over the course of the three immersion periods, the Ascomycota and Basidiomycota represent 73.37% (T1 = 36.72%, T2 = 20.36%, and T3 = 16.28%) and 14.05% of phyla abundance (T1 = 3.40%, T2 = 8.11%, and T3 = 2.54%), respectively. Chytridiomycota was noted at T1 and T2 with 6.44% and 5.43% respectively, while Zoopagomycota was only detected at T3.

Among the genera observed across all three immersion times, only *Cladosporium* and *Cyphellophora* were consistently present. The abundance of *Cladosporium* decreased with longer immersion times, from 12.60% at T1 to 3.31% at T2, and further to 2.10% at T3. At T1 and T2, genera such as *Didymella*, *Malassezia*, and *Zygothlyctis* were present, along with representatives from the Chytridiales order. The *Fusarium* genus was observed at T2 and became more prevalent by T3. Specifically, T3 marked the exclusive presence of *Leptosphaeria* and *Penicillium*, with abundances of 1.48% and 0.24%, respectively.

Finally, when looking at the 'marine toxicity' parameter, only representatives of the Ascomycota phylum were present among all marine toxicity values (**Supplementary Figure 2**). Notably representatives of the *Cladosporium* genus were observed on all polymers, except PHBH. Representatives of the other major phyla, *i.e.* Chytridiomycota and Basidiomycota, were absent on PSX-BA (toxicity value of 0.4) and PSE-PI (toxicity value of 0.6).

### 3.2. Assessing fungal colonization potential through cultivation

All processed plastic samples resulted in the isolation of fungi. The number of isolates obtained from conventional and biodegradable polymers was 1,446 and 1,101, respectively, whereas seawater samples yielded only 23 fungal isolates. Specifically, the PSE-PI polymer allowed isolating 546 isolates (mean = 182, s.d = 49, n=3), PSE-CP samples resulted in 477

isolates (mean = 159, s.d = 54, n=3), and PSX-BA yielded 422 isolates (mean = 141, s.d = 41, n=3). The biodegradable polymers also exhibited isolation potential, generating 458 fungal isolates with PLA (mean = 153, s.d = 49, n=3), 370 with PLA/PBAT (mean = 123, s.d = 21, n=3) and 273 with PHBH (mean = 91, s.d = 14, n=3). The variability in isolation frequencies, depending on all original plastic materials, appeared substantial, resulting in no statistical difference between the isolation frequencies of the six immersed polymers (ANOVA,  $p$ -value = 0.19). Interestingly, when frequencies of a similar type (conventional or biodegradable) were pooled, the  $p$ -value decreased to 0.071, indicating an absence of statistical difference *stricto sensu*, but still a trend, as the  $p$ -value was between 0.05 and 0.1. However, such a result should be interpreted with caution as these isolation frequencies include duplicates, which may alter the highlighted pattern.

Isolation rates were subsequently compared using a bubble plot-based figure, considering the specific media employed (*i.e.* Martin Rose Agar (M), Sabouraud-Dextrose (SAB), Potato Dextrose Agar (PDA), and Czapeck (CZP)), as well as the six supplemented polymers (*i.e.* PS, PE, PET, PVC, PCL, and PHBV). An additional condition excluding any polymer (NP) was also incorporated into the analysis (**Supplementary Figure 3A.**). The M and SAB culture media facilitated the isolation of a high number of fungal isolates, constituting ~33% and ~31% of all isolates. Conversely, CZP and PDA enabled the isolation of nearly similar numbers of isolates (~17.8%). Variations in the frequencies of the 'Supplemented polymers' variable across the 'Media' variable were observed (**Supplementary Figure 3A.**), suggesting specific preferences of fungal isolates for certain culture conditions. Conditions supplemented with PE and PCL exhibited high isolation frequencies, indicating a potential affinity of fungal isolates for these culture conditions or a higher ability to utilize these plastics as carbon sources. Conversely, the conditions supplemented with PS appeared to have relatively low isolation frequencies overall.

When assessing the correlation between immersed polymers and immersion times (T1, T2, and T3), an inverted j-curve trend became apparent across all examined polymers (**Supplementary Figure 3B.**). Specifically, there was an observed increase in the number of isolates from T1 to T2, followed by a decrease from T2 to T3. The increase between T1 and T2, encompassing all polymers, ranged from 1.24 to 1.98 times. Notably, the increase for conventional polymers (mean=1.53; sd=0.39) surpassed that of biodegradable polymers

(mean=1.42; sd=0.07), albeit displaying greater variability. Subsequently, between T2 and T3, the decline was more conspicuous for conventional polymers (mean=0.74; sd=0.16) compared to biodegradable polymers (mean=0.60; sd=0.31). Chi-square independence tests, integrating all polymers and incubation durations, underscored a significant dependence between these two factors ( $p$ -value=6.34.10<sup>-10</sup>). When combining isolate proportions by polymer type (conventional vs. biodegradable), the associated  $p$ -value for the independence test was 0.14, signifying independence between 'polymer type' and 'immersion duration'. These findings indicated the inherent specificity of each polymer, a characteristic masked when proportions are aggregated into categories.

When evaluating the correlation between immersed polymers and supplemented polymers across various culture media, it was evident that the condition without polymer supplementation consistently resulted in the highest number of isolates (**Supplementary Figure 3C.**). The exception was the PSE-CP condition, for which the number of isolates obtained on media supplemented with PE was slightly higher (22.2% vs. 21.6%). Regarding supplemented polymers, the trends remained generally similar, regardless of the initially immersed plastic. Specifically, PCL and PE led to the highest number of isolates, while the PHBV and PS conditions yielded the lowest numbers. Chi-square independence tests were once again conducted, initially incorporating all polymers. This analysis demonstrated the dependence between the two factors, namely the type of immersed polymers and the supplemented polymers ( $p$ -value = 2.98E-03). When grouping proportions into the 'conventional' and 'biodegradable' categories, independence was observed ( $p$ -value = 0.44). This further supports the earlier conclusion, particularly emphasizing the inherent specificity of each polymer.

Ultimately, the influence of the incubation temperature (15 or 25°C) did not reveal any statistically significant differences; the proportions remaining consistently similar.

### 3.3. Screening for the ability to utilize polymers as carbon sources

The culture-dependent approach used generated exactly 2,570 fungal isolates obtained from the immersed plastic samples, from which 300 were randomly selected to screen their ability to utilize plastic polymers as carbon sources (**Figure 4**). Considering the nearly equal original proportions across sampling dates (T1, 3 weeks / T2, 6 weeks / T3, 9 weeks), we

opted to arbitrarily choose 100 isolates per sampling date, integrating 10 isolates from the 'plastic-free' condition. As shown in Figure 4.A et 4.B, original proportions were preserved using stratified and weighted sampling to select isolates representative of the initial collection.

Screening of representative isolates from the initial collection was performed using three complementary approaches (solid-based *-i.e.* using agar medium- and liquid-based using laser nephelometry and an OcelloScope). A highly stringent approach was performed in order to select the most promising isolates, meaning those for which consistent results were obtained between each approach and presenting the highest growth capabilities in the polymer-supplemented conditions. Our strategy was linked to the presence of isolates that exhibit strong plastic utilization capabilities as a carbon source, both under liquid and solid conditions, as well as demonstrating important growth under contrasting conditions of plastic particle concentration (10% for the solid-based approach and 0.039-2.5% for the liquid-based environments). We acknowledge that while employing such a strategy, we may overlook potentially interesting isolates that stand out in one or two conditions but consider that, due the large number of isolates and conditions, consistency between approaches should be prioritized.

An UpSet plot was created to represent the 6 most-promising isolates selected based on the neonced principles (**Figure 5**). Isolates C1589, C1591, C2281, and C2559 showed capability of utilizing only one specific polymer as carbon source - PE, PVC, PHBV, and PCL, respectively. Conversely, isolate C1666 showed strong utilization of PCL, PET and PS as carbon sources, while C2218 demonstrated growth on PHBV and PVC.

Isolate C1589 exhibited a fungal growth on solid medium supplemented with PE similar to that on the positive control (solid medium supplemented with glucose) (**Supplementary Figure 4.A**). This visual observation was further supported quantitatively by determining the thallus area, which was in fact slightly smaller (28%) compared to the positive control. The liquid-based method confirmed this trend, demonstrating a growth curve for PE that was slightly lower but comparable to that of the positive control (although the  $\mu_{max}$  was ~40% lower for PE compared to the positive control) (**Supplementary Figure 4.B**). Additionally, a

distinctive mycelial network was observed using the OcelloScope for the PE-supplemented condition.

On solid medium supplemented with PVC, isolate C1591 showed fungal growth that was quite similar to that seen on the positive control (**Supplementary Figure 5.A**). The thallus area was 30% lower in comparison to the positive control. Laser nephelometry study showed that the growth curve on PVC was similar to that on the positive control but still lower ( $\mu_{\max}$  ~56% lower for PVC than the positive control) (**Supplementary Figure 5.B**). On day 14, the PVC-supplemented condition showed growth structures using the OcelloScope, such as spore chains and conidiospores (**Supplementary Figure 5.C**).

Despite having a larger thallus in the positive control condition, isolate C1666 showed significant fungal growth on media supplemented with PCL, PET and PS (**Supplementary Figure 6.A**). Compared to the positive control, the mycelium area measurements were higher for the PET-supplemented condition (38% lower to the positive control), PS-supplemented condition (49%), and PCL-supplemented condition (69%), despite relatively moderate growth curves in liquid media (**Supplementary Figure 6.B**). However, on day 14, a mycelial network was discernible with the OcelloScope (**Supplementary Figure 6.C**). On solid medium supplemented with PHBV and PVC, isolate C2218 showed fungal growth that was nearly identical to that seen on the positive control (**Supplementary Figure 7.A**). The thallus area was reduced compared to the positive control (24% and 14%, respectively). Laser nephelometry results supported this pattern, showing a growth curve for PHBV that was greater than that of the positive control ( $\mu_{\max}$  was 10% higher than the positive control) and for PVC that was slightly lower than the positive control ( $\mu_{\max}$  was 12% lower compared to the positive control) (**Supplementary Figure 7.B**). Results from the OcelloScope analysis also revealed the presence of reproductive structures, such as spore chains (**Supplementary Figure 7.C**). In comparison to the positive control, isolate C2281 demonstrated reduced fungal growth on solid medium supplemented with PHBV, which led to a nearly 40% reduction in thallus area as compared to the positive control (**Supplementary Figure 8.A**). Additionally, a shift in morphology was apparent; with aerial pigmented thalli on PHBV-enriched medium compared to white thalli on the positive control. This pattern was supported by analysis in liquid medium, which revealed a poorer growth curve for PHBV in comparison to the positive control ( $\mu_{\max}$  was 66% lower for PHBV)

(**Supplementary Figure 8.B**). Still, a strong mycelial network could be seen with the OcelloScope (**Supplementary Figure 8.C**).

On solid medium supplemented with PCL, isolate C2559 displayed fungal growth that was similar to that seen on the positive control (**Supplementary Figure 9.A**). Thallus area comparison showed nearly equality (98%) between this condition and the positive control, thus confirming this observation. However, analysis in liquid media showed a more pronounced reduction (**Supplementary Figure 9.B**). Compared to the positive control, PCL had a 33% lower  $\mu_{max}$  on its growth curve but the OcelloScope analysis revealed a distinct mycelial network (**Supplementary Figure 9.C**).

Nucleotide BLAST queries of the six most promising isolates allowed the identification of C1589 as *Penicillium velutinum* (ITS, 99.83% ID; partial 28S, 100% ID; beta-tubulin, 100% ID), C1591 as *Penicillium crustosum* (ITS, 100% ID; partial 28S, 100% ID; beta-tubulin, 100% ID), C1666 as *Gliomastix murorum* (ITS, 99.83% ID; partial 28S, 100% ID), C2218 as *Aspergillus fumigatus* (actin, 100% ID), C2281 as a putative novel species in the *Penicillium* genus (ITS, 99.83% ID with *Penicillium* sp. ; partial 28S, 99.82% ID with *Penicillium* sp. ; beta-tubulin, 97.77% ID with *Penicillium* sp. and 95.94% ID with *Penicillium koreense*, as the first listed species in the top-BLAST hits), and C2559 as *Penicillium brevicompactum* (ITS, 100% ID; partial 28S, 100% ID; beta-tubulin, 98.92% ID).

## 4. Discussion

Our study sheds new light on the diversity and ecology of fungi associated with various plastic polymers immersed in the marine environment in natural settings. Key findings include: (i) differentiating polymer and free-living fungal communities, (ii) evaluating the impact of plastic types (conventional vs. biodegradable), (iii) assessing how immersion time affects fungal colonization, and (iv) evaluating the ability of isolated fungi to utilize polymers as a sole carbon source. We reveal that plastics offer a unique ecological niche for surface-associated fungi in marine ecosystems, establishing these fungi as integral components of the plastisphere, and that some could be potential candidates for plastic biodegradation



#### 4.1. The fungal plastisphere

Albeit a limited number of ASVs were obtained in this study, the obtained 18S rRNA gene metabarcoding dataset revealed a clear difference in fungal diversity and richness between biodegradable and conventional plastics compared to the surrounding seawater. This result appears consistent with previous studies that demonstrated significant differences between eukaryotic/fungal communities colonizing plastic particles and the free-living seawater communities (Debroas *et al.* 2017b; Kettner *et al.* 2017, 2019; Oberbeckmann *et al.* 2016). Polymer samples immersed in the Marina du Château in Brest, either conventional or biodegradable, had a significantly lower diversity than surrounding seawater. This aligns with previous findings, notably in the Warnow River and Baltic Sea ecosystems where fungal communities associated with immersed PE and PS plastics have shown less diversity than that of the surrounding water (Kettner *et al.* 2017), a trend that was also observed for other eukaryotic organisms on the same microplastics (Kettner *et al.* 2019). However, other studies have shown opposite trends, either for bacteria (*e.g.* Bryant *et al.* 2016; Dussud *et al.* 2018) or fungi (*e.g.* De Tender *et al.* 2017; Debroas *et al.* 2017a). De Tender *et al.* (2017) highlighted that plastic matrix colonization faces greater disruption offshore compared to harbor settings, attributed to the minimal mechanical force effects in sheltered zones. They propose that biofilms on plastics in such areas achieve rapid maturity. Several studies have demonstrated that open sea habitats exhibit significantly higher richness and diversity of bacterial and microeukaryotic communities on plastic surfaces compared to that of the surrounding water (Debroas *et al.* 2017b; Zhang *et al.* 2022). Conversely, coastal areas show greater richness and diversity of bacterial and microeukaryotic communities in seawater than on plastic matrices (Caruso *et al.* 2023; Cheng *et al.* 2021; Dodhia *et al.* 2023; Kesy *et al.* 2019; Kettner *et al.* 2019; Ogonowski *et al.* 2018; Rajeev *et al.* 2019).

Differences between polymers were mostly related to PSE-PI for which plastispheres showed relatively low values in terms of richness and diversity indices. Our study showed a notable reduced ASV number for conventional polymers that exhibit high toxicity and hazardous chemical transfer, compared to biodegradable polymers with higher values for these

parameters. Out of the six tested plastic polymers samples, only this plastic, PSE-PI, is not food contact certified. PS is a C-C backbone polymer with diverse impacts on various microorganisms. PS microplastics were found to induce effects ranging from mortality of *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia magna*, impacts on growth and development on *Chlamydomonas reinhardtii* and *Scenedesmus quadricauda* through alteration of photosynthesis (Siddiqui *et al.* 2023). Drawing clear conclusions on this ecotoxicological part from our study is challenging due to the complex influences on diversity in PS-based plastics. These influences include hydrophobic matrix effects, intrinsic chemical properties of PS, such as PS nanoparticles release, and/or the presence of adsorbed toxic compounds.

Observed trends in fungal diversity and community composition over time indicated that the biofilm evolves towards a reduction of its complexity, as inferred from the absence of several fungal lineages affiliated to the Chytridiomycota and Basidiomycota phyla after 9 weeks of immersion. This trend appears consistent with a previous study targeting PE sheets and dolly ropes immersed in the North Sea, and for which a decrease in fungal relative abundance was observed ~9-14 weeks after immersion, albeit no clear temporal profile could be identified due to considerable fungal community structure variability (De Tender *et al.* 2017). However, our result contrasts with our prior study on PVC-immersed panels (Philippe *et al.* 2023), which reported no disappearance of specific fungal lineages over time.

When comparing results from molecular and culture-dependent approaches, knowing that we can only compare general trends here since the 2,570 isolates have not been fully identified, a number of consistencies as well as differences appear. More isolates were obtained from conventional plastic samples than from biodegradable plastics, although the differences were not significant, in line with the diversity indices obtained through metabarcoding. Nonetheless, the number of isolates over time did not follow the same trend between the two approaches used, with a J-curve trend for metabarcoding and an inverted J-curve trend for the cultural approach. Again, these conclusions must be tempered since the isolate collection must contain replicates, which may alter the highlighted trends. However, it appears that supplementation with PS led to a very low number of isolates compared to the other supplemented polymers. This could be correlated, with all due caution, with the low complexity of the fungal communities highlighted for conventional

polymers in our metabarcoding dataset, notably for PSE-PI. While PS is a polymer that is refractory to hydrolysis, preventing efficient degradation, leading to persistence in the natural environment (Dong *et al.* 2024), various fungal species have demonstrated PS degradation. However, efficiency was limited as revealed by mass loss (w/w) of 1.81% for *Mucor* sp. and 2.17% for *Cephalosporium* sp. (Chaudhary & Vijayakumar 2020), 2.2% for *Mortierella* sp., 6.8% for *Geomyces* sp., and 8.4% for *Penicillium* sp. (Oviedo-Anchundia *et al.* 2021), and the highest potential for *Phanerochaete chrysosporium* with 19.71% degradation (Wu *et al.* 2023). This may explain why few isolates were obtained on PS-supplemented media.

Ascomycota and Basidiomycota were found on conventional and biodegradable plastics at all immersion times, which is in line with research done in the North Sea (ref). On all polymers, Ascomycota were the most prevalent group, with a lesser percentage of Basidiomycota absent from PLA and PSE-PI plastics. According to Oberbeckmann *et al.* (2016) and Wang *et al.* (2021), these groups are frequently found colonizing plastic-associated biofilms. Given that fungi are known to colonize plastics early on, it is possible that they play a significant role in the production of biofilms (De Tender *et al.* 2017). Ascomycota dominate among fungal isolates, according to recent studies on the microbial degradation of plastic (Gambarini *et al.* 2021; Sánchez 2020). During immersion times T1 and T2, Chytridiomycota were less prevalent. Chytridiomycota have been detected in low abundance in two investigations, despite evidence of its large abundance on plastic biofilms being recorded in the oceans (Kettner *et al.* 2017; Oberbeckmann *et al.* 2016). These are saprotrophs that could be important for the decomposition of organic debris in biofilms (Vincent *et al.* 2022). As first reported by Lacerda *et al.* (2020) in the marine plastisphere and then by Sérvulo *et al.* (2023), Zoopagomycota, representing a minor fraction, was found only on PSE-CP plastics at T3, and not in the surrounding seawater. While there was no significant difference across the three immersion times, there was a nearly significant difference between T1 and T3. Sérvulo *et al.* (2023) concluded that these groups were already well established during the first incubation period (30 days) because they did not find any variations in the composition of the fungal community between incubation periods. Additionally, there were no clear temporal changes in the composition of the fungal community in the North Sea between sampling times (De Tender *et al.* 2017).

Based on the metabarcoding approach results, the most prevalent fungal genera on plastics corresponded to *Fusarium*, *Didymella*, *Chytridiales incertae sedis*, and *Cladosporium*. *Cladosporium*, which is extensively distributed in the marine environment, was observed on plastics but not in seawater, and some of its species have been reported to exhibit polyurethane polyester (PU)-degrading capabilities (Lacerda, 2020). The *Fusarium* genus harbors species that are well known for their capacity to degrade plastic (Srikanth *et al.* 2022). Only at T3 did the *Penicillium* genus appeared, some of its members having also been reported as degraders of different types of plastics (Srikanth *et al.* 2022).

#### 4.2. Ability to utilize polymers as carbon sources

Among the 6 isolates considered as most promising based on our multiparametric selection strategy, *i.e.* based on the results from growth tests in Petri dishes and Laser Nephelometry coupled with OcelloScope analysis, some trends were revealed. Indeed, 3 isolates were obtained from conventional immersed plastics (two on PSE-CP and one PSX-BA) and three from biodegradable plastics (two from PLA and one from PLA/PBAT), predominantly at longer immersion times (6 and 9 weeks), with only one promising isolate obtained after 3 weeks of immersion (*i.e.* isolate C2281). A form of consistency between the original culture medium and the ability to degrade a specific polymer can be highlighted. Indeed, C2281 and C2218 isolates came from a medium enriched with PHBV and showed abilities to use PHBV as a carbon source, and C1666 came from a medium enriched with PS and was able to grow on PS as a carbon source. Interestingly, all highly promising isolates were obtained from media enriched with specific polymers, with none from non-enriched media. Isolate C2559 was obtained from a medium enriched with PS but was isolated from PLA, a biodegradable plastic. It showed an ability to utilize PCL, another biodegradable plastic, as a carbon source.

The screening approach has revealed lower but real carbon utilization capacities from polymers compared to positive controls, which appears consistent from a metabolic perspective. While the shortlist of promising isolates may appear limited initially due to stringent criteria, this appears consistent with a recent study on PCL degradation, which found 5 strong PCL-utilizing isolates among 146 screened and 262 isolated fungi (Kim *et al.*

2022). The most promising isolates now require in-depth complementary analyses to validate the biodegradation of polymer(s) through various dedicated methods (e.g. mass weight, FTIR, <sup>13</sup>C-labelled polymers, etc.) as it was performed on *Alternaria alternata* FB1 (Gao *et al.* 2022), *Zalerion maritima* (Paço *et al.* 2017), or *Rhodotorula mucilaginosa* (Vaksmaa *et al.* 2023) on PE.

### 4.3. Taxonomic identification of putative fungal degraders

Four of the six most promising isolates are affiliated to the genus *Penicillium*, which clusters numerous species well known for their bioremediation potential (Leitão 2009). As opportunistic saprophytes, representatives of this genus are widespread and play major roles in a variety of environments (Srinivasan 2020). *Penicillium* species are capable of producing extracellular enzymes and metabolizing hydrocarbons in both saline and non-saline environments (Leitão 2009). Many isolates within this genus have also demonstrated the ability to degrade a variety of polymers. *Penicillium brevicompactum* C2559 was isolated from a nine-week-immersed PLA sample, which corresponds to a PLA sample that also had an ASV associated with *Penicillium* in our metabarcoding data, and cultured using on a PS-supplemented medium. A previous study has demonstrated the ability of this species to degrade polyvinyl alcohol (PVA) (Mohamed *et al.* 2021), a polymer considered as biodegradable (Chiellini, 2003; Pantelic, 2021), which appears consistent with our results demonstrating a potential for another biodegradable polymer, here PCL (Narancic *et al.* 2018). Such capabilities may be explained by their shared properties. *Penicillium velutinum* C1589 was isolated from a six-week-immersed PLA/PBAT sample and cultured using a PET-supplemented medium. *P. velutinum* C1589 appears able to utilize PE as a carbon source. *Penicillium velutinumexpansum* is a ubiquitous species, found both in soil and in marine environments associated with wooden substrates (Rämä *et al.* 2014). To date, no study has demonstrated its plastic degradation potential. *Penicillium crustosum* C1591 was obtained from a six-week-immersed PSE-CP sample and cultured using a PET-supplemented medium. *Penicillium crustosum* C1591 appears able to utilize PVC as a carbon source. *P. crustosum* is another ubiquitous species, retrieved in numerous habitats, and recently highlighted as able to degrade PET through the synthesis of cutinases and

lipases (Anbalagan *et al.* 2022). Despite less pronounced growth on a PET-enriched medium (growth rate below the applied threshold), this isolate was selected for its ability to grow on both plastics, as confirmed by nephelometry and agar culture methods (**Supplementary figure 5**). Finally, *Penicillium* sp. C2281 appears taxonomically original based on the ITS, partial 28S, and beta-tubulin genetic markers. Complementary analyses are required for complete description of this putative new *Penicillium* species, which was cultured on a PHBV-supplemented medium and showed ability to utilize PHBV as a carbon source. *Penicillium* sp. C2281 seems to belong to the Lanata-Divaricata section, a group gathering many species isolated both from terrestrial and aquatic environments (Pangging *et al.* 2021).

Our research also revealed another species, *Gliomastix murorum* C1666, collected from a PSE-CP sample that has been immersed during six weeks and grown on a medium supplemented with PS. Interestingly, *Gliomastix murorum* C1666 appears able to utilize PCL and PET, but also PS as carbon sources, highlighting here the consistency between the original culture medium and the ability to degrade a specific polymer. The genus *Gliomastix* gathers ubiquitous species retrieved in both terrestrial and marine habitats (Florio Furno *et al.* 2022). The ability of this genus to biodegrade plastic has not yet been investigated, to the best of our knowledge, even if one laccase, also known to be involved in plastic degradation (e.g. Santacruz-Juárez *et al.* (2021), from this species has been isolated and described but only in the frame of dye decolorization (Romero-Soto *et al.* 2021).

Among the numerous fungal species capable of degrading plastic polymers, the *Aspergillus* genus, a filamentous fungal group with representatives known for their broad distribution across various environments, including marine ecosystems (Nasrabadi *et al.* 2023), stands out. *Aspergillus fumigatus*, in particular, has been recognized for its capacity to degrade a wide range of polymers, such as PHB, PHV, PES (Polyethersulfone), PEA (Polyesteracetals), PBA (Polybutanamide), PCL (Polycaprolactone), PBS (Polybutylene Succinate) (Ekanayaka *et al.* 2022), as well as PVC (El-Dash *et al.* 2023) and PE (Muhonja *et al.* 2018). Here, an isolate identified as *A. fumigatus* (C2218), retrieved from a PLA sample submerged for nine weeks, a sample also showing an ASV linked to *Aspergillus* in our metabarcoding data, was cultured on a medium supplemented with PHBV. Our screening process confirmed its capability to utilize PHBV as a carbon source, highlighting the consistency between cultural and screening

approaches. Additionally, *A. fumigatus* C2218 demonstrated an ability to use PVC as a carbon source, aligning with existing literature, and showed a limited capacity to metabolize PS, corroborating the detection of an *Aspergillus*-affiliated ASV in one PSE-CP sample from our metabarcoding dataset. *Aspergillus fumigatus* is an ubiquitous opportunistic pathogen, which can induce a spectrum of infections in humans, with symptoms varying based on the host's immune status (Garcia-Rubio & Alcazar-Fuoli 2018). *A. fumigatus* is found in terrestrial and marine settings, including seawater, sediment, and in association with algae, corals, and clams, with research primarily focusing on its secondary metabolites (Li *et al.* 2023). However, reports of its occurrence on marine plastics remain extremely limited (Alshehrei 2017). Recently, (Gkoutselis *et al.* 2024) indicated a significant selection process for important human pathogens within the soil plastisphere, closely associated with general virulence traits in fungi. These results support the hypothesis that the plastisphere facilitates niche expansion for fungal pathogens, showcasing the development of a preference among these pathogens for plastic environments. The detection of pathogenic fungi on plastics immersed in seawater broadens the scope of the risk associated with plastic pollution. Our results indicate that the dissemination of fungal pathogens is not confined to terrestrial environments but also extends to marine ecosystems. This expansion of our understanding emphasizes the need for comprehensive strategies to mitigate the impact of plastic pollution across all ecosystems and highlights the interconnectedness of terrestrial and marine environmental health issues.

## 5. Conclusion

This study provides significant insights into the colonization patterns and biodegradation potential of fungal communities on plastics immersed in the marine environment. The observed diversity among fungal species on both polystyrene and biodegradable polymers, coupled with their ability to utilize these polymers as a carbon source, underscores their capacity to colonize a variety of plastic matrices, and the potential role of fungi in mitigating plastic pollution in marine ecosystems. These findings highlight the need for further research into the mechanisms of fungal biodegradation and their practical applications in environmental management strategies aimed at addressing the global challenge of plastic waste. Furthermore, the study identified certain fungal species capable of degrading

plastics. Some fungal species have shown consistency between their biodegradation capabilities and the polymers from which they were isolated, whereas other species have shown contrasted patterns. With all due caution, as only few isolates were identified, our results may suggest that fungal community assembly on marine plastic debris are a mix of deterministic processes (niche theory) and stochastic processes (neutral theory), as recently proven on the fungal soil plastisphere using metagenomic data (Gkoutselis *et al.* 2024). Interestingly, no species with ability to utilize polymer as carbon source was isolated from PSE-PI, the polymer exhibiting the highest toxicity and lowest fungal diversity in our metabarcoding dataset. One species with the ability to utilize polymer as carbon source is also known as an opportunistic pathogen (*Aspergillus fumigatus*). This dual role underscores the complexity of fungal interactions within marine ecosystems and highlights the potential risks and benefits of leveraging these organisms in bioremediation efforts. It emphasizes the necessity for careful consideration of ecological impacts and health implications in the development of fungal-based strategies for plastic waste management, that need to be more focused on enzymes than microorganisms.

**Author Contributions:** Conceptualization, G.B., E.C.; Methodology, G.B., E.C., A.P., M.S., C.L., K.T.; Validation, G.B., E.C., C.L., K.T.; Formal Analysis, G.B., E.C., A.P., M.Q.; Investigation, G.B., E.C., A.P.; Resources, C.L., K.T., M.K.; Data Curation, G.B., E.C., A.P.; Writing—Original Draft Preparation, G.B., E.C., A.P.; Writing—Review & Editing, G.B., E.C., A.P., C.L., K.T.; Visualization, G.B., E.C., A.P.; Project Administration, G.B., E.C.; Funding Acquisition, G.B., E.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This study was funded by the French National Research Agency ANR-19-CE04-0001-01 MycoPLAST project. The field experimentation was conducted in the context of OceanWise, an Interreg Atlantic project co-funded by the European Union.

**Acknowledgements:** Authors thank A-L. Cassone for providing technical assistance with sampling, A. Weill for assistance with isolating deposits into the UBO Culture Collection, S. Treguer for help in preparing culture media, D. Perrée and F. Déniel for aiding in DNA extraction and genetic marker amplification. Additionally, C. Le Meur and S. Debaets are also thanked for their technical support.





## References

- Agostini, L., Moreira, J.C.F., Bendia, A.G., Kmit, M.C.P., Waters, L.G., Santana, M.F.M., Sumida, P.Y.G., Turra, A. & Pellizari, V.H. (2021) Deep-sea plastisphere: Long-term colonization by plastic-associated bacterial and archaeal communities in the Southwest Atlantic Ocean. *Science of The Total Environment* 793: 148335. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148335>
- Alshehrei, F. (2017) Biodegradation of Low Density Polyethylene by Fungi Isolated from Red Sea Water. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6: 1703–1709. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2017.608.204>
- Anbalagan, S., Venkatakrishnan, H.R.R., Ravindran, J., Sathyamoorthy, J., Rangabashyam, K.A., Ragini, Y.P., Sathasivam, J. & Sureshbabu, K. (2022) Hydrolytic Degradation of Polyethylene Terephthalate by Cutinase Enzyme Derived from Fungal Biomass—Molecular Characterization. *Biointerface Research in Applied Chemistry* 12: 653–667. <https://doi.org/10.33263/BRIAC121.653667>
- Andrady, A.L. & Neal, M.A. (2009) Applications and societal benefits of plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364: 1977–1984. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0304>
- Bolyen, E., Rideout, J.R., Dillon, M.R., Bokulich, N.A., Abnet, C.C., Al-Ghalith, G.A., Alexander, H., Alm, E.J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J.E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C.J., Brown, C.T., Callahan, B.J., Caraballo-Rodríguez, A.M., Chase, J., Cope, E.K., Da Silva, R., Diener, C., Dorrestein, P.C., Douglas, G.M., Durall, D.M., Duvallet, C., Edwardson, C.F., Ernst, M., Estaki, M., Fouquier, J., Gauglitz, J.M., Gibbons, S.M., Gibson, D.L., Gonzalez, A., Gorlick, K., Guo, J., Hillmann, B., Holmes, S., Holste, H., Huttenhower, C., Huttley, G.A., Janssen, S., Jarmusch, A.K., Jiang, L., Kaehler, B.D., Kang, K.B., Keefe, C.R., Keim, P., Kelley, S.T., Knights, D., Koester, I., Kosciulek, T., Kreps, J., Langille, M.G.I., Lee, J., Ley, R., Liu, Y.-X., Loftfield, E., Lozupone, C., Maher, M., Marotz, C., Martin, B.D., McDonald, D., McIver, L.J., Melnik, A.V., Metcalf, J.L., Morgan, S.C., Morton, J.T., Naimey, A.T., Navas-Molina, J.A., Nothias, L.F., Orchanian, S.B., Pearson, T., Peoples, S.L., Petras, D., Preuss, M.L., Pruesse, E., Rasmussen, L.B., Rivers, A., Robeson, M.S., Rosenthal, P., Segata, N., Shaffer, M., Shiffer, A., Sinha, R., Song, S.J., Spear, J.R., Swafford, A.D., Thompson, L.R., Torres, P.J., Trinh, P., Tripathi, A., Turnbaugh, P.J., Ul-Hasan, S., van der Hooft, J.J.J., Vargas, F., Vázquez-Baeza, Y., Vogtmann, E., von Hippel, M., Walters, W., Wan, Y., Wang, M., Warren, J., Weber, K.C., Williamson, C.H.D., Willis, A.D., Xu, Z.Z., Zaneveld, J.R., Zhang, Y., Zhu, Q., Knight, R. & Caporaso, J.G. (2019) Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology* 37: 852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
- Bryant, J.A., Clemente, T.M., Viviani, D.A., Fong, A.A., Thomas, K.A., Kemp, P., Karl, D.M., White, A.E. & DeLong, E.F. (2016) Diversity and Activity of Communities Inhabiting Plastic Debris in the North Pacific Gyre. *mSystems* 1: 10.1128/msystems.00024-16. <https://doi.org/10.1128/msystems.00024-16>
- Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A. & Holmes, S.P. (2016) DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13: 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Caruso, G., Maimone, G., Rappazzo, A.C., Dell'Acqua, O., Laganà, P. & Azzaro, M. (2023) Microbial Biofilm Colonizing Plastic Substrates in the Ross Sea (Antarctica): First Overview of Community-Level Physiological Profiles. *Journal of Marine Science and Engineering* 11: 1317. <https://doi.org/10.3390/jmse11071317>

- Chaudhary, A.K. & Vijayakumar, R.P. (2020) Studies on biological degradation of polystyrene by pure fungal cultures. *Environment, Development and Sustainability* 22: 4495–4508. <https://doi.org/10.1007/s10668-019-00394-5>
- Cheng, J., Jacquin, J., Conan, P., Pujo-Pay, M., Barbe, V., George, M., Fabre, P., Bruzard, S., Ter Halle, A., Meistertzheim, A.-L. & Ghiglione, J.-F. (2021) Relative Influence of Plastic Debris Size and Shape, Chemical Composition and Phytoplankton-Bacteria Interactions in Driving Seawater Plastisphere Abundance, Diversity and Activity. *Frontiers in Microbiology* 11.
- De Tender, C., Devriese, L.I., Haegeman, A., Maes, S., Vangeyte, J., Catrijsse, A., Dawyndt, P. & Ruttink, T. (2017) Temporal Dynamics of Bacterial and Fungal Colonization on Plastic Debris in the North Sea. *Environmental Science & Technology* 51: 7350–7360. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00697>
- Debroas, D., Domaizon, I., Humbert, J.-F., Jardillier, L., Lepère, C., Oudart, A. & Taïb, N. (2017a) Overview of freshwater microbial eukaryotes diversity: a first analysis of publicly available metabarcoding data. *FEMS Microbiology Ecology* 93. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix023>
- Debroas, D., Mone, A. & Ter Halle, A. (2017b) Plastics in the North Atlantic garbage patch: A boat-microbe for hitchhikers and plastic degraders. *Science of The Total Environment* 599–600: 1222–1232. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.059>
- Dodhia, M.S., Rogers, K.L., Fernández-Juárez, V., Carreres-Calabuig, J.A., Löscher, C.R., Tisserand, A.A., Keulen, N., Riemann, L., Shashoua, Y. & Posth, N.R. (2023) Microbe-mineral interactions in the Plastisphere: Coastal biogeochemistry and consequences for degradation of plastics. *Frontiers in Marine Science* 10.
- Dong, D., Guo, Z., Yang, X. & Dai, Y. (2024) Comprehensive understanding of the aging and biodegradation of polystyrene-based plastics. *Environmental Pollution* 342: 123034. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.123034>
- Dussud, C., Meistertzheim, A.L., Conan, P., Pujo-Pay, M., George, M., Fabre, P., Coudane, J., Higgs, P., Elineau, A., Pedrotti, M.L., Gorsky, G. & Ghiglione, J.F. (2018) Evidence of niche partitioning among bacteria living on plastics, organic particles and surrounding seawaters. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)* 236: 807–816. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.027>
- Ekanayaka, A.H., Tibpromma, S., Dai, D., Xu, R., Suwannarach, N., Stephenson, S.L., Dao, C. & Karunarathna, S.C. (2022) A Review of the Fungi That Degrade Plastic. *Journal of Fungi* 8: 772. <https://doi.org/10.3390/jof8080772>
- El-Dash, H.A., Yousef, N.E., Aboelazm, A.A., Awan, Z.A., Yahya, G. & El-Ganiny, A.M. (2023) Optimizing Eco-Friendly Degradation of Polyvinyl Chloride (PVC) Plastic Using Environmental Strains of *Malassezia* Species and *Aspergillus fumigatus*. *International Journal of Molecular Sciences* 24: 15452. <https://doi.org/10.3390/ijms242015452>
- Eriksen, M., Lebreton, L.C.M., Carson, H.S., Thiel, M., Moore, C.J., Borerro, J.C., Galgani, F., Ryan, P.G. & Reisser, J. (2014) Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. H. G. Dam (ed.). *PLoS ONE* 9: e111913. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>
- Erni-Cassola, G., Zadjelovic, V., Gibson, M.I. & Christie-Oleza, J.A. (2019) Distribution of plastic polymer types in the marine environment; A meta-analysis. *Journal of Hazardous Materials* 369: 691–698. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.067>
- Florio Furno, M., Poli, A., Ferrero, D., Tardelli, F., Manzini, C., Oliva, M., Pretti, C., Campani, T., Casini, S., Fossi, M.C., Varese, G.C. & Prigione, V. (2022) The Culturable Mycobiota of Sediments and Associated Microplastics: From a Harbor to a Marine Protected Area, a Comparative Study. *Journal of Fungi* 8: 927.

- <https://doi.org/10.3390/jof8090927>
- Gambarini, V., Pantos, O., Kingsbury, J.M., Weaver, L., Handley, K.M. & Lear, G. (2021) Phylogenetic Distribution of Plastic-Degrading Microorganisms. *mSystems* 6: e01112-20. <https://doi.org/10.1128/mSystems.01112-20>
- Gao, R., Liu, R. & Sun, C. (2022) A marine fungus *Alternaria alternata* FB1 efficiently degrades polyethylene. *Journal of Hazardous Materials* 431: 128617. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128617>
- Garcia-Rubio, R. & Alcazar-Fuoli, L. (2018) Diseases Caused by *Aspergillus fumigatus*
- Geyer, R., Jambeck, J.R. & Law, K.L. (2017) Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances* 3: e1700782. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Gkoutselis, G., Rohrbach, S., Harjes, J., Brachmann, A., Horn, M.A. & Rambold, G. (2024) Plastiphily is linked to generic virulence traits of important human pathogenic fungi. *Communications Earth & Environment* 5: 1–18. <https://doi.org/10.1038/s43247-023-01127-3>
- Guillou, L., Bachar, D., Audic, S., Bass, D., Berney, C., Bittner, L., Boutte, C., Burgaud, G., de Vargas, C., Decelle, J., del Campo, J., Dolan, J.R., Dunthorn, M., Edvardsen, B., Holzmann, M., Kooistra, W.H.C.F., Lara, E., Le Bescot, N., Logares, R., Mahé, F., Massana, R., Montresor, M., Morard, R., Not, F., Pawlowski, J., Probert, I., Sauvadet, A.-L., Siano, R., Stoeck, T., Vaultot, D., Zimmermann, P. & Christen, R. (2013) The Protist Ribosomal Reference database (PR2): a catalog of unicellular eukaryote Small Sub-Unit rRNA sequences with curated taxonomy. *Nucleic Acids Research* 41: D597–D604. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1160>
- Harrison, J.P., Schratzberger, M., Sapp, M. & Osborn, A.M. (2014) Rapid bacterial colonization of low-density polyethylene microplastics in coastal sediment microcosms. *BMC Microbiology* 14: 232. <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0232-4>
- Isobe, A., Azuma, T., Cordova, M.R., Cózar, A., Galgani, F., Hagita, R., Kanhai, L.D., Imai, K., Iwasaki, S., Kako, S., Kozlovskii, N., Lusher, A.L., Mason, S.A., Michida, Y., Mitsuhashi, T., Morii, Y., Mukai, T., Popova, A., Shimizu, K., Tokai, T., Uchida, K., Yagi, M. & Zhang, W. (2021) A multilevel dataset of microplastic abundance in the world's upper ocean and the Laurentian Great Lakes. *Microplastics and Nanoplastics* 1: 16. <https://doi.org/10.1186/s43591-021-00013-z>
- Jones, E.B.G., Pang, K.-L., Abdel-Wahab, M.A., Scholz, B., Hyde, K.D., Boekhout, T., Ebel, R., Rateb, M.E., Henderson, L., Sakayaroj, J., Suetrong, S., Dayarathne, M.C., Kumar, V., Raghukumar, S., Sridhar, K.R., Bahkali, A.H.A., Gleason, F.H. & Norphanphoun, C. (2019) An online resource for marine fungi. *Fungal Diversity* 96: 347–433. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00426-5>
- Kesy, K., Oberbeckmann, S., Kreikemeyer, B. & Labrenz, M. (2019) Spatial Environmental Heterogeneity Determines Young Biofilm Assemblages on Microplastics in Baltic Sea Mesocosms. *Frontiers in Microbiology* 10: 1665. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01665>
- Kettner, M.T., Oberbeckmann, S., Labrenz, M. & Grossart, H.-P. (2019) The Eukaryotic Life on Microplastics in Brackish Ecosystems. *Frontiers in Microbiology* 10.
- Kettner, M.T., Rojas-Jimenez, K., Oberbeckmann, S., Labrenz, M. & Grossart, H.-P. (2017) Microplastics alter composition of fungal communities in aquatic ecosystems: Fungal communities on microplastics. *Environmental Microbiology* 19: 4447–4459. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13891>
- Kim, S.H., Lee, J.W., Kim, J.S., Lee, W., Park, M.S. & Lim, Y.W. (2022) Plastic-inhabiting fungi in marine environments and PCL degradation activity. *Antonie van Leeuwenhoek* 115: 1379–1392. <https://doi.org/10.1007/s10482-022-01782-0>
- Kirstein, I.V., Wichels, A., Krohne, G. & Gerdts, G. (2018) Mature biofilm communities on

- synthetic polymers in seawater - Specific or general? *Marine Environmental Research* 142: 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.09.028>
- Lacerda, A.L. d. F., Proietti, M.C., Secchi, E.R. & Taylor, J.D. (2020) Diverse groups of fungi are associated with plastics in the surface waters of the Western South Atlantic and the Antarctic Peninsula. *Molecular Ecology* 29: 1903–1918. <https://doi.org/10.1111/mec.15444>
- Lacerda, A.L. d. F., Taylor, J.D., Rodrigues, L. d. S., Kessler, F., Secchi, E. & Proietti, M.C. (2022) Floating plastics and their associated biota in the Western South Atlantic. *Science of The Total Environment* 805: 150186. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150186>
- Lacroix, C., André, S. & Loon, W.M.G.M. (2022) *Abundance, Composition and Trends of Beach Litter. In: OSPAR, 2023: The 2023 Quality Status Report for the North-East Atlantic. OSPAR Commission, London.*
- Latva, M., Dedman, C.J., Wright, R.J., Polin, M. & Christie-Oleza, J.A. (2022) Microbial pioneers of plastic colonisation in coastal seawaters. *Marine Pollution Bulletin* 179: 113701. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113701>
- Lau, W.W.Y., Shiran, Y., Bailey, R.M., Cook, E., Stuchtey, M.R., Koskella, J., Velis, C.A., Godfrey, L., Boucher, J., Murphy, M.B., Thompson, R.C., Jankowska, E., Castillo Castillo, A., Pilditch, T.D., Dixon, B., Koerselman, L., Kosior, E., Favoino, E., Gutberlet, J., Baulch, S., Atreya, M.E., Fischer, D., He, K.K., Petit, M.M., Sumaila, U.R., Neil, E., Bernhofen, M.V., Lawrence, K. & Palardy, J.E. (2020) Evaluating scenarios toward zero plastic pollution. *Science (New York, N.Y.)* 369: 1455–1461. <https://doi.org/10.1126/science.aba9475>
- Lear, G., Kingsbury, J.M., Franchini, S., Gambarini, V., Maday, S.D.M., Wallbank, J.A., Weaver, L. & Pantos, O. (2021) Plastics and the microbiome: impacts and solutions. *Environmental Microbiome* 16: 2. <https://doi.org/10.1186/s40793-020-00371-w>
- Martin, M. (2011) Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet journal* 17: 10–12. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>
- McMurdie, P.J. & Holmes, S. (2014) Waste Not, Want Not: Why Rarefying Microbiome Data Is Inadmissible. *PLOS Computational Biology* 10: e1003531. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003531>
- Mincer, T., Zettler, E. & Amaral-Zettler, L. (2016) Biofilms on Plastic Debris and Their Influence on Marine Nutrient Cycling, Productivity, and Hazardous Chemical Mobility. *Handbook of Environmental Chemistry.*
- Mohamed, H., Shah, A.M., Nazir, Y., Naz, T., Nosheen, S. & Song, Y. (2021) Biodegradation of poly (vinyl alcohol) by an oryctophragmus rhizosphere-associated fungus *Penicillium brevicompactum* OVR-5, and its proposed PVA biodegradation pathway. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 38: 10. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03197-x>
- Muhonja, C.N., Makonde, H., Magoma, G. & Imbuga, M. (2018) Biodegradability of polyethylene by bacteria and fungi from Dandora dumpsite Nairobi-Kenya. P. K. Arora (ed.). *PLOS ONE* 13: e0198446. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198446>
- Narancic, T., Verstichel, S., Reddy Chaganti, S., Morales-Gamez, L., Kenny, S.T., De Wilde, B., Babu Padamati, R. & O'Connor, K.E. (2018) Biodegradable Plastic Blends Create New Possibilities for End-of-Life Management of Plastics but They Are Not a Panacea for Plastic Pollution. *Environmental Science & Technology* 52: 10441–10452. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02963>
- Nasrabadi, A.E., Ramavandi, B. & Bonyadi, Z. (2023) Recent progress in biodegradation of microplastics by *Aspergillus* sp. in aquatic environments. *Colloid and Interface Science Communications* 57: 100754. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2023.100754>

- Noel, C., Cormier, A., Leroi, L. & Durand, P. (2021) SAMBA: Standardized and Automated MetaBarcoding Analyses workflow. <https://doi.org/10.48546/WORKFLOWHUB.WORKFLOW.156.1>
- Oberbeckmann, S., Osborn, A.M. & Duhaime, M.B. (2016) Microbes on a Bottle: Substrate, Season and Geography Influence Community Composition of Microbes Colonizing Marine Plastic Debris. D. A. Carter (ed.). *PLOS ONE* 11: e0159289. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159289>
- Odobel, C., Dussud, C., Philip, L., Derippe, G., Lauters, M., Eyheraguibel, B., Burgaud, G., Ter Halle, A., Meistertzheim, A.-L., Bruzard, S., Barbe, V. & Ghiglione, J.-F. (2021) Bacterial Abundance, Diversity and Activity During Long-Term Colonization of Non-biodegradable and Biodegradable Plastics in Seawater. *Frontiers in Microbiology* 12: 734782. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.734782>
- Ogonowski, M., Motiei, A., Ininbergs, K., Hell, E., Gerdes, Z., Udekwu, K.I., Bacsik, Z. & Gorokhova, E. (2018) Evidence for selective bacterial community structuring on microplastics. *Environmental Microbiology* 20: 2796–2808. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14120>
- Olesen, S.W., Duvall, C. & Alm, E.J. (2017) dbOTU3: A new implementation of distribution-based OTU calling. J. H. Badger (ed.). *PLOS ONE* 12: e0176335. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176335>
- Oviedo-Anchundia, R., Castillo, D.S. del, Naranjo-Morán, J., Francois, N., Álvarez-Barreto, J., Alarcón, A., Villafuerte, J.S. & Barcos-Arias, M. (2021) Analysis of the degradation of polyethylene, polystyrene and polyurethane mediated by three filamentous fungi isolated from the Antarctica. *African Journal of Biotechnology* 20: 66–76. <https://doi.org/10.5897/AJB2020.17200>
- Paço, A., Duarte, K., da Costa, J.P., Santos, P.S.M., Pereira, R., Pereira, M.E., Freitas, A.C., Duarte, A.C. & Rocha-Santos, T.A.P. (2017) Biodegradation of polyethylene microplastics by the marine fungus *Zalerion maritimum*. *Science of The Total Environment* 586: 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.017>
- Pangging, M., Nguyen, T.T.T. & Lee, H.B. (2021) Seven New Records of *Penicillium* Species Belonging to Section *Lanata-Divaricata* in Korea. *Mycobiology* 49: 363–375. <https://doi.org/10.1080/12298093.2021.1952814>
- Philippe, A., Noël, C., Eyheraguibel, B., Briand, J.-F., Paul-Pont, I., Ghiglione, J.-F., Coton, E. & Burgaud, G. (2023) Fungal Diversity and Dynamics during Long-Term Immersion of Conventional and Biodegradable Plastics in the Marine Environment. *Diversity* 15: 579. <https://doi.org/10.3390/d15040579>
- Plastics Europe (2022) Plastics - the facts 2022. *Plastics Europe FR*. Available from: <https://plasticseurope.org/fr/knowledge-hub/plastics-the-facts-2022/> (July 20, 2023)
- Porta, R. (2021) Anthropocene, the plastic age and future perspectives. *FEBS Open Bio* 11: 948–953. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13122>
- Rajeev, M., Sushmitha, T.J., Toleti, S.R. & Pandian, S.K. (2019) Culture dependent and independent analysis and appraisal of early stage biofilm-forming bacterial community composition in the Southern coastal seawater of India. *Science of The Total Environment* 666: 308–320. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.171>
- Rämä, T., Nordén, J., Davey, M.L., Mathiassen, G.H., Spatafora, J.W. & Kauserud, H. (2014) Fungi ahoy! Diversity on marine wooden substrata in the high North. *Fungal Ecology* 8: 46–58. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2013.12.002>
- Romero-Soto, I.C., Martínez-Pérez, R.B., Rodríguez, J.A., Camacho-Ruiz, R.M., Barbachano-Torres, A., Martín del Campo, M., Napoles-Armenta, J., Pliego-Sandoval, J.E., Concha-Guzmán, M.O. & Angeles Camacho-Ruiz, M. (2021) Galactomannans for Entrapment of *Gliomastix murorum* Laccase and Their Use in

- Reactive Blue 2 Decolorization. *Sustainability* 13: 9019.  
<https://doi.org/10.3390/su13169019>
- Sánchez, C. (2020) Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: An overview of macro- and microplastics biodegradation. *Biotechnology Advances* 40: 107501. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107501>
- Santacruz-Juárez, E., Buendía-Corona, R.E., Ramírez, R.E. & Sánchez, C. (2021) Fungal enzymes for the degradation of polyethylene: Molecular docking simulation and biodegradation pathway proposal. *Journal of Hazardous Materials* 411: 125118. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125118>
- Sasada, R., Weinstein, M., Prem, A., Jin, M. & Bhasin, J. (2020) FIGARO: An efficient and objective tool for optimizing microbiome rRNA gene trimming parameters. *Journal of Biomolecular Techniques : JBT* 31: S2.
- Schneider, C.A., Rasband, W.S. & Eliceiri, K.W. (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* 9: 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Sérvulo, T., Taylor, J.D., Proietti, M.C., Rodrigues, L. d. S., Puertas, I.P., Barutot, R.A. & Lacerda, A.L. d. F. (2023) Plasticsphere composition in a subtropical estuary: Influence of season, incubation time and polymer type on plastic biofouling. *Environmental Pollution* 332: 121873. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121873>
- Siddiqui, S.A., Singh, S., Bahmid, N.A., Shyu, D.J.H., Domínguez, R., Lorenzo, J.M., Pereira, J.A.M. & Câmara, J.S. (2023) Polystyrene microplastic particles in the food chain: Characteristics and toxicity - A review. *Science of The Total Environment* 892: 164531. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164531>
- Srikanth, M., Sandeep, T.S.R.S., Sucharitha, K. & Godi, S. (2022) Biodegradation of plastic polymers by fungi: a brief review. *Bioresources and Bioprocessing* 9: 42. <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00532-4>
- Turner, A. (2020) Foamed Polystyrene in the Marine Environment: Sources, Additives, Transport, Behavior, and Impacts. *Environmental Science & Technology* 54: 10411–10420. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c03221>
- Vaksmas, A., Polerecky, L., Dombrowski, N., Kienhuis, M.V.M., Posthuma, I., Gerritse, J., Boekhout, T. & Niemann, H. (2023) Polyethylene degradation and assimilation by the marine yeast *Rhodotorula mucilaginosa*. *ISME Communications* 3: 1–8. <https://doi.org/10.1038/s43705-023-00267-z>
- Vincent, A.E.S., Chaudhary, A., Kelly, J.J. & Hoellein, T.J. (2022) Biofilm assemblage and activity on plastic in urban streams at a continental scale: Site characteristics are more important than substrate type. *Science of The Total Environment* 835: 155398. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155398>
- Woodall, L.C., Jungblut, A.D., Hopkins, K., Hall, A., Robinson, L.F., Gwinnett, C. & Paterson, G.L.J. (2018) Deep-sea anthropogenic macrodebris harbours rich and diverse communities of bacteria and archaea. *PLOS ONE* 13: e0206220. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206220>
- Wright, R.J., Erni-Cassola, G., Zadjelovic, V., Latva, M. & Christie-Oleza, J.A. (2020) Marine Plastic Debris: A New Surface for Microbial Colonization. *Environmental Science & Technology* 54: 11657–11672. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02305>
- Wu, F., Guo, Z., Cui, K., Dong, D., Yang, X., Li, J., Wu, Z., Li, L., Dai, Y. & Pan, T. (2023) Insights into characteristics of white rot fungus during environmental plastics adhesion and degradation mechanism of plastics. *Journal of Hazardous Materials* 448: 130878. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130878>
- Yang, S., Xu, W., Zhang, K., Hu, J., Gao, Y., Cui, G., Grossart, H.-P. & Luo, Z. (2022) Fungal communities differ with microplastic types in deep sea sediment enrichments of the Eastern Pacific. *International Biodeterioration & Biodegradation* 173: 105461.

- <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2022.105461>
- Yang, Y., Suyamud, B., Liang, S., Liang, X., Wan, W. & Zhang, W. (2023) Distinct spatiotemporal succession of bacterial generalists and specialists in the lacustrine plastisphere. *Environmental Microbiology* 25: 2746–2760.  
<https://doi.org/10.1111/1462-2920.16400>
- Zeghal, E., Vaksmaa, A., Vielfaure, H., Boekhout, T. & Niemann, H. (2021) The Potential Role of Marine Fungi in Plastic Degradation – A Review. *Frontiers in Marine Science* 8.
- Zhang, S.-J., Zeng, Y.-H., Zhu, J.-M., Cai, Z.-H. & Zhou, J. (2022) The structure and assembly mechanisms of plastisphere microbial community in natural marine environment. *Journal of Hazardous Materials* 421: 126780.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126780>



## Figure legends

**Figure 1. Principal Coordinate Analysis (PCoA) based on the 18S dataset, showing the relationship between the variables “polymers” (A) and “immersion time” (B).** The PCoA was generated using Bray–Curtis dissimilarity as the distance measure, with each point representing a sample. Ellipses connect groups of samples that were subjected to the same conditions.

**Figure 2. Bubble-plot representing the proportions of phyla or genus, based on the 18S dataset, according to the “Polymers” (A,B) and “Type of plastic” (C,D) variables.**

**Figure 3. Bubble-plot representing the proportions of phyla (A) or genus (B), based on the 18S dataset, according to the ‘Time’ variable .**

**Figure 4. Bubble-plot showing the proportions of isolates per isolation medium (BH+PVC, +PS, +PHBV, +PET, +PE, +PCL) from the initial collection(A), or stratified and weighted sampling (B) to select representative isolates from this collection.**

**Figure 5. Upset plot representing the most promising isolates utilizing either a single polymer (light grey circles) or several polymers (dark grey circles) as carbon sources .**

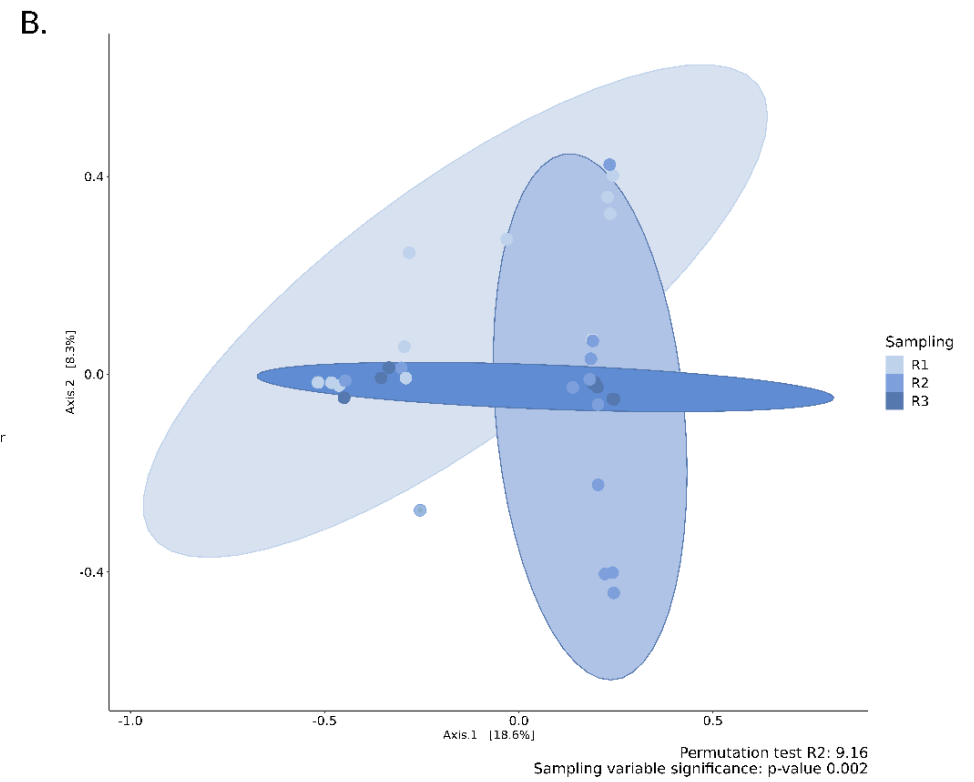
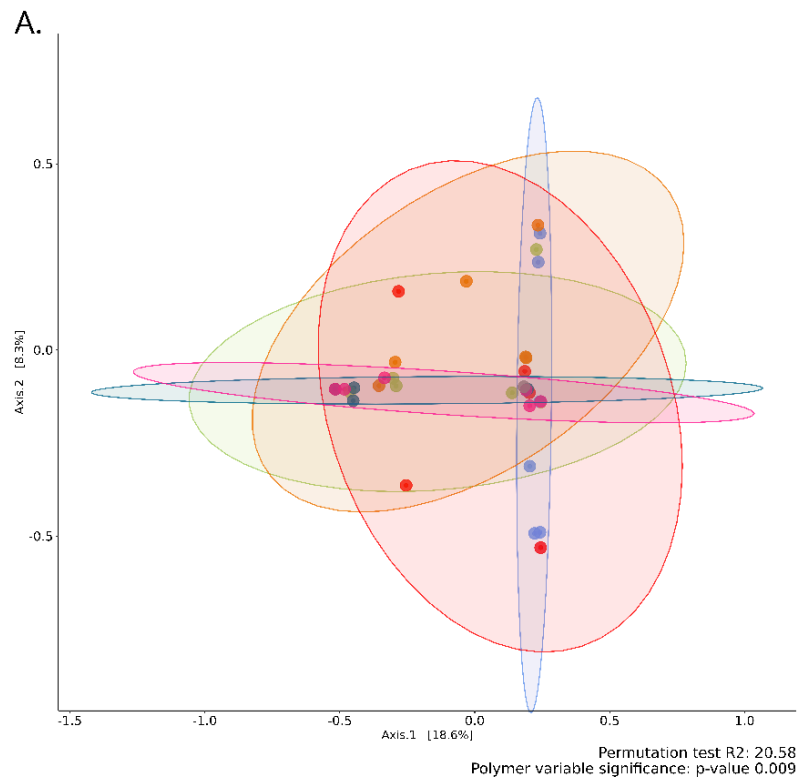


Figure 1

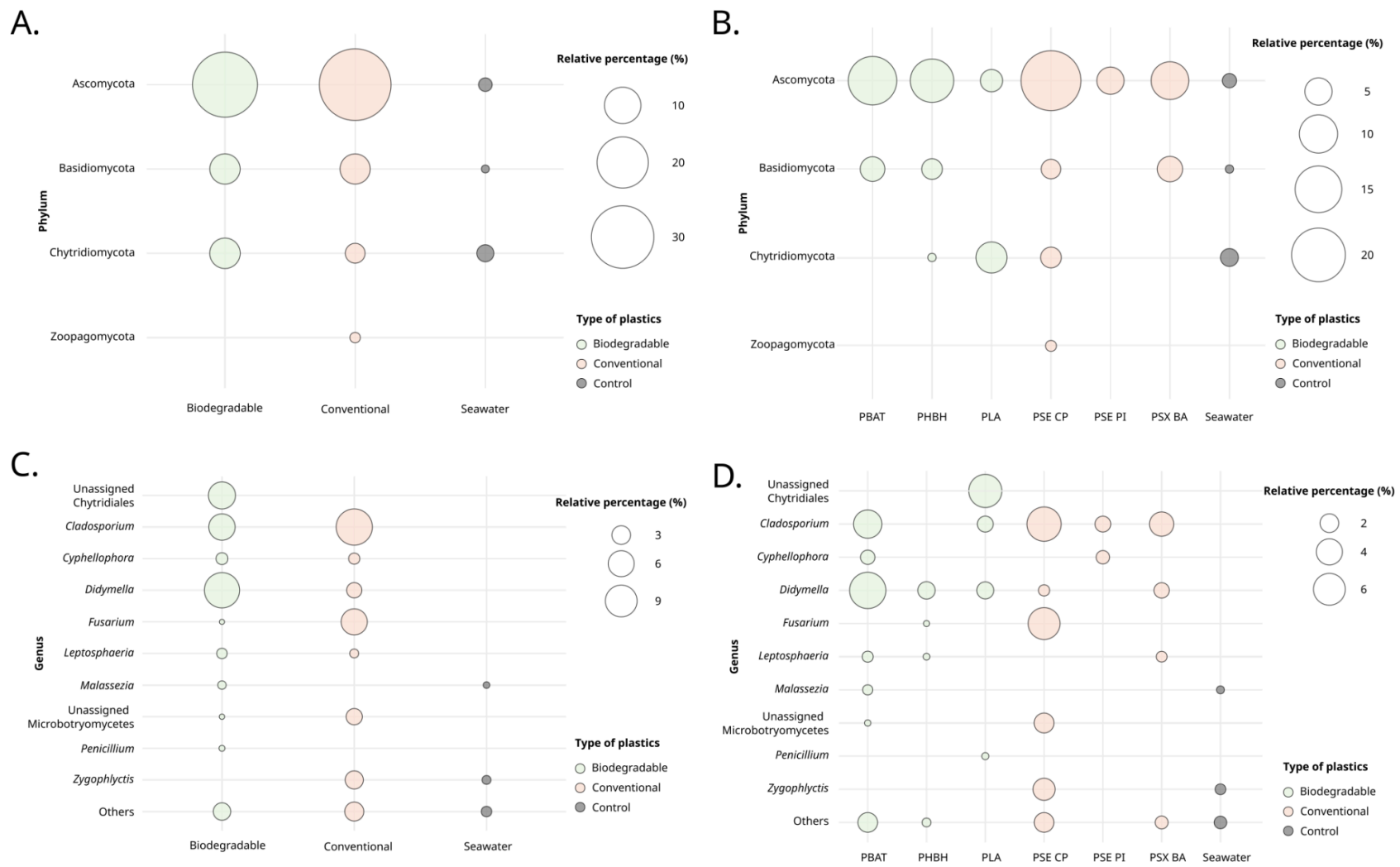


Figure 2.

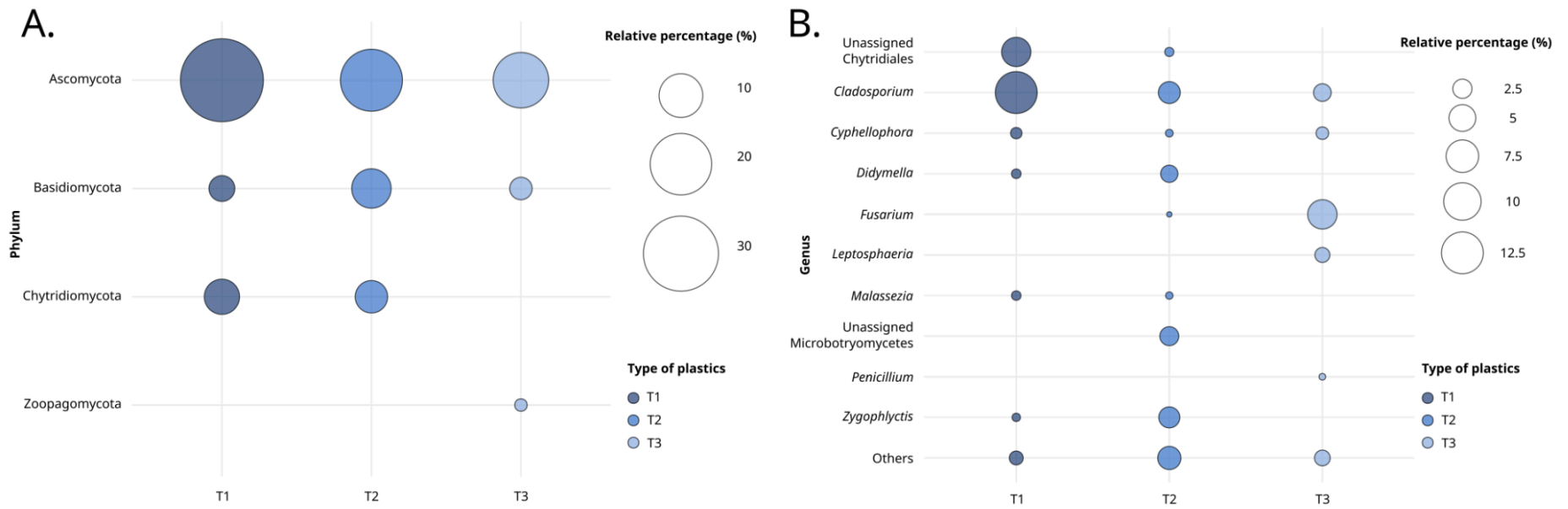


Figure 3.

A.



B.

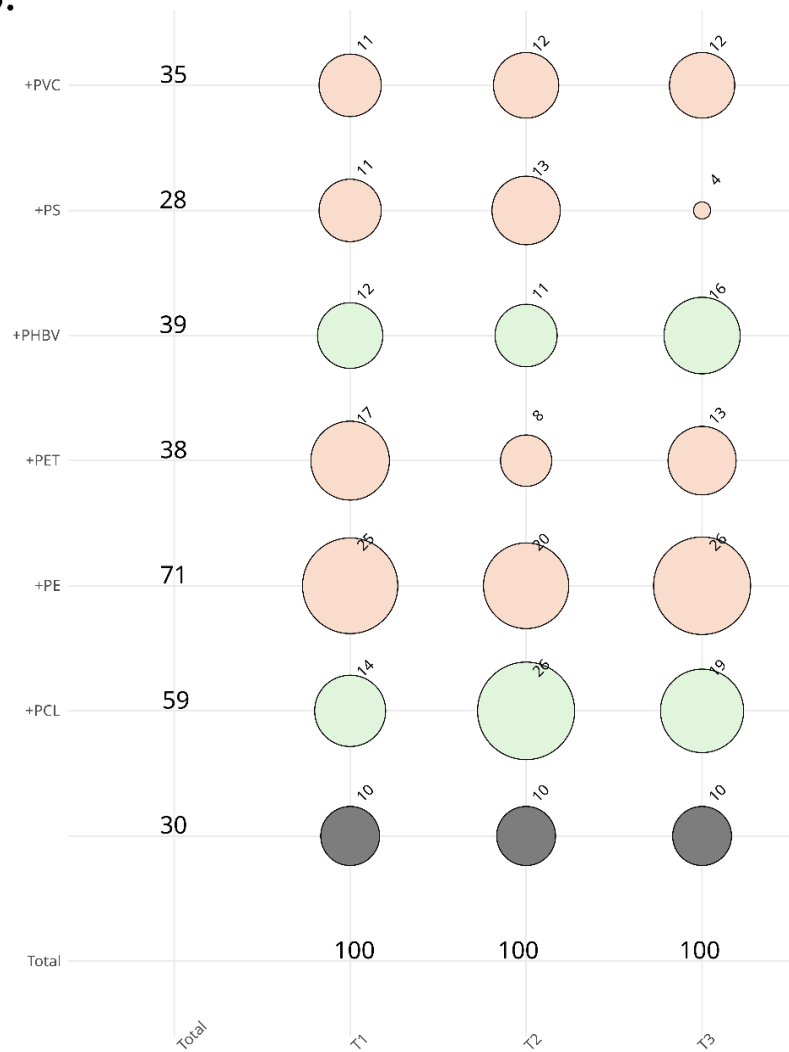


Figure 4.

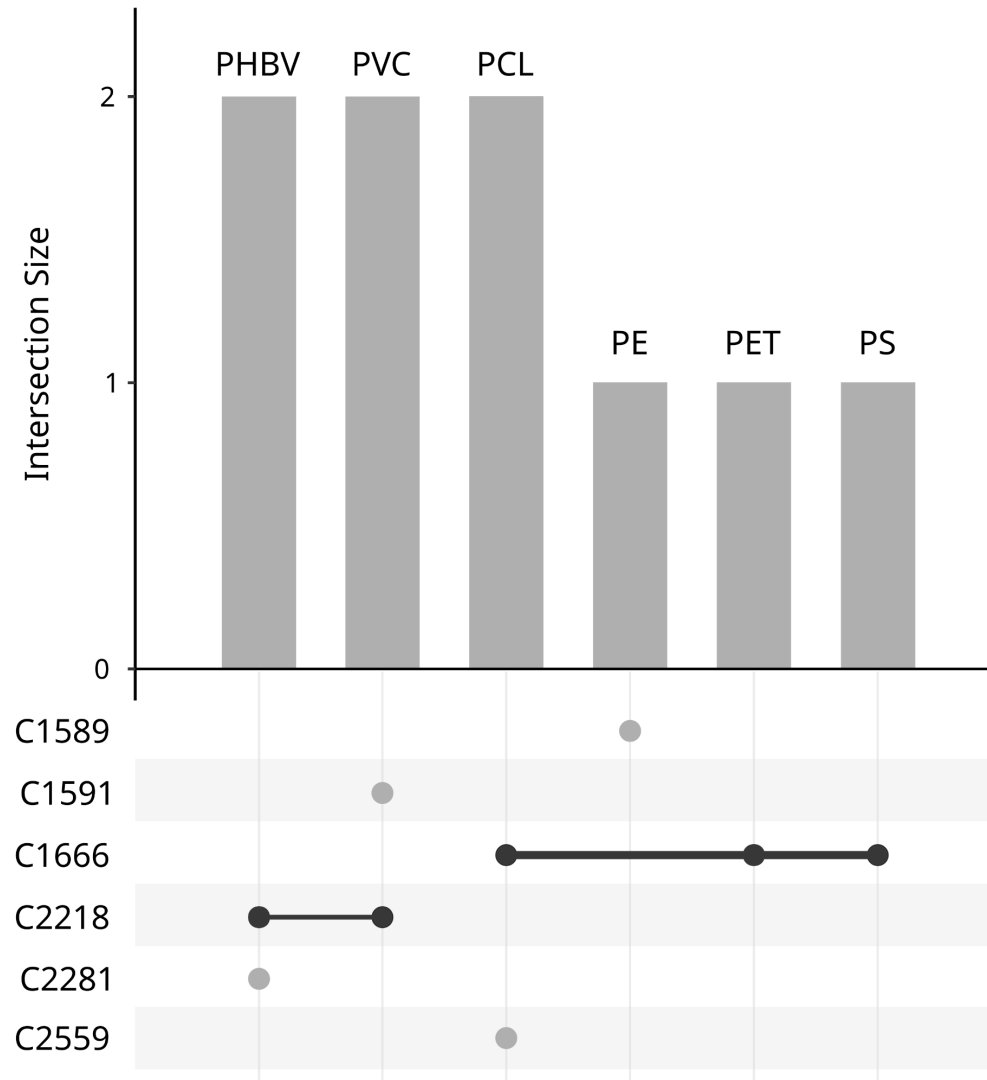


Figure 5.

**Supplementary table 1.** Plastic materials immersed and their intrinsic characteristics

<b>Material</b>	<b>Code</b>	<b>Biodegradability</b>	<b>Transfer of hazardous chemicals</b>	<b>Toxicity on marine organisms</b>
Expanded Polystyrene (PSE-CP)	EPS-F	No	0.7	0.3
Expanded Polystyrene (PSE-PI)	EPS-I	No	1	0.6
Extruded Polystyrene (PSX-BA)	XPS-O	No	1.2	0.4
Polylactic Acid (PLA)	PLA-F	Yes (industrial composting facilities)	0	0.1
Polylactic Acid + Polybutylene Adipate Terephthalate (PBAT)	PLA/PBAT	Yes (industrial composting facilities)	0	0.1
Poly3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate (PHBH)	PHBH-F	Yes	0	0

**Supplementary table 2.** Sequences of ITS, Actine,  $\beta$ -tubuline, 28S primers and their amplification conditions used in this study.

Region/ Gene	Primer name		Sequence (5'-3')	Number of bp	Amplification conditions				
					Cycles	Temperature / Time			
ITS	Forward	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	20	1x	95°C	55°C	72°C	16°C
	Reverse	ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	22		29x	5min	1 min	1 min
					1x			10min	$\infty$
Actin	Forward	ACT-512F	ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC	20	1x	95°C	58°C	72°C	16°C
	Reverse	ACT-783R	TACGAGTCCTTCTGGCCCAT	20		29x	8min	15 sec	20 sec
					1x			5min	$\infty$
$\beta$ -tubulin	Forward	Bt2a	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC	24	1x	94°C	61°C	72°C	16°C
	Reverse	Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC	24		35x	5min	1min	1min
					1x			5min	$\infty$
28S	Forward	NL1	GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG	24	1x	95°C	52°C	72°C	16°C
	Reverse	NL4	GGTCCGTGTTTCAAGACGG	19		36x	2 min	1 min	90 sec
					1x			10min	$\infty$



**Supplementary table 3.** Accession numbers related to the most promising isolates.

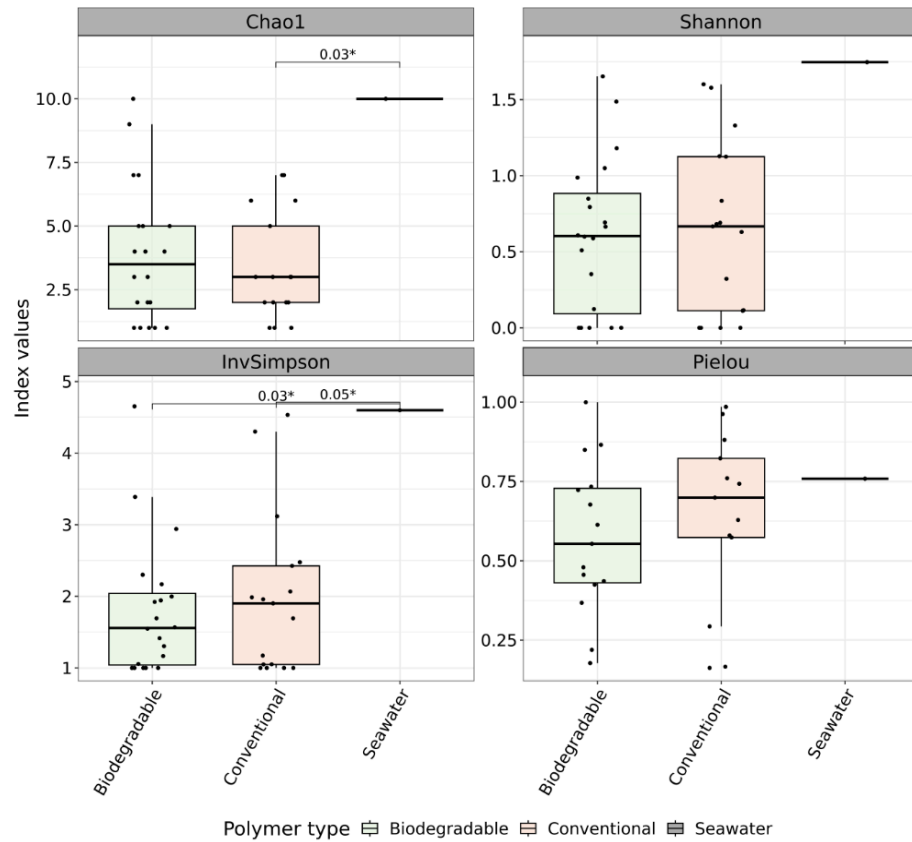
Isolates	ITS	Actin	$\beta$ -tubulin	28S
C1589	PP338150	-	in process	PP338232
C1591	PP338151	-	in process	PP338233
C1666	PP338152	-	-	PP338234
C2218	PP338153	in process	-	PP338235
C2281	PP338154	-	in process	PP338236
C2559	PP338155	-	in process	PP338237

**Supplementary table 4.** Alpha diversity index values for each sample for the 18S dataset (natural settings).

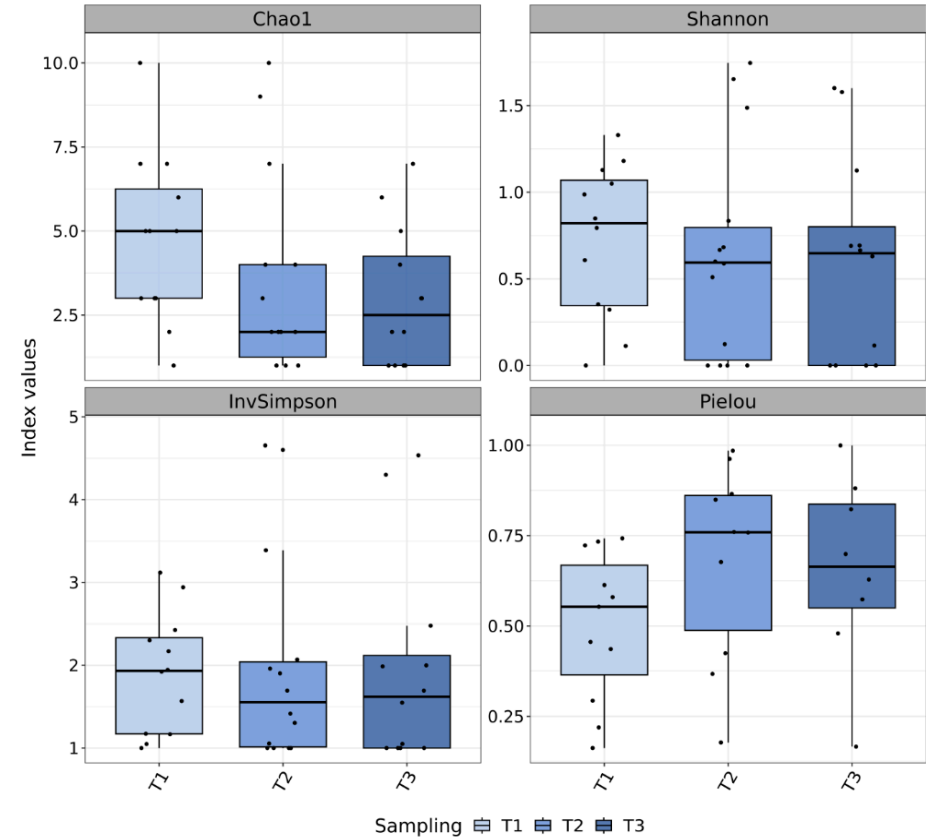
Samples	Time	Chao1	Shannon	InvSimpson	Pielou
PLA/PBAT_1_R1	T1	5	0,35	1,17	0,22
PLA/PBAT_1_R2	T2	7	1,65	4,65	0,85
PLA/PBAT_2_R1	T1	3	0,79	1,92	0,72
PLA/PBAT_3_R1	T1	3	0,61	1,57	0,55
PLA/PBAT_3_R2	T2	2	0,60	1,69	0,87
PLA/PBAT_3_R3	T3	4	0,66	1,55	0,48
PHBH_1_R2	T2	4	0,59	1,42	0,42
PHBH_1_R3	T3	1	0,00	1,00	NA
PHBH_2_R1	T1	5	0,99	2,30	0,61
PHBH_2_R2	T2	2	0,12	1,05	0,18
PHBH_2_R3	T3	1	0,00	1,00	NA
PHBH_3_R1	T1	5	1,18	2,94	0,73
PHBH_3_R2	T2	9	1,49	3,39	0,68

PHBH_3_R3	T3	1	0,00	1,00	NA
PLA_1_R1	T1	1	0,00	1,00	NA
PLA_2_R1	T1	10	1,05	2,17	0,46
PLA_2_R2	T2	1	0,00	1,00	NA
PLA_2_R3	T3	2	0,69	2,00	1,00
PLA_3_R1	T1	7	0,85	1,94	0,44
PLA_3_R2	T2	4	0,51	1,30	0,37
PSE-CP_1_R1	T1	6	1,33	3,12	0,74
PSE-CP_1_R2	T2	1	0,00	1,00	NA
PSE-CP_2_R1	T1	7	1,13	2,43	0,58
PSE-CP_2_R2	T2	3	0,83	2,07	0,76
PSE-CP_2_R3	T3	5	1,13	2,48	0,70
PSE-CP_3_R2	T2	2	0,67	1,90	0,96
PSE-PI_1_R2	T2	1	0,00	1,00	NA
PSE-PI_1_R3	T3	2	0,12	1,05	0,17
PSE-PI_2_R3	T3	3	0,69	1,99	0,63
PSE-PI_3_R2	T2	1	0,00	1,00	NA
PSE-PI_3_R3	T3	3	0,63	1,69	0,57
PSX-BA_1_R1	T1	3	0,32	1,17	0,29
PSX-BA_1_R2	T2	2	0,68	1,96	0,98
PSX-BA_1_R3	T3	7	1,60	4,30	0,82
PSX-BA_2_R1	T1	2	0,11	1,05	0,16
PSX-BA_2_R3	T3	6	1,58	4,53	0,88
PSX-BA_3_R3	T3	1	0,00	1,00	NA
Seawater_R2	T2	10	1,75	4,60	0,76

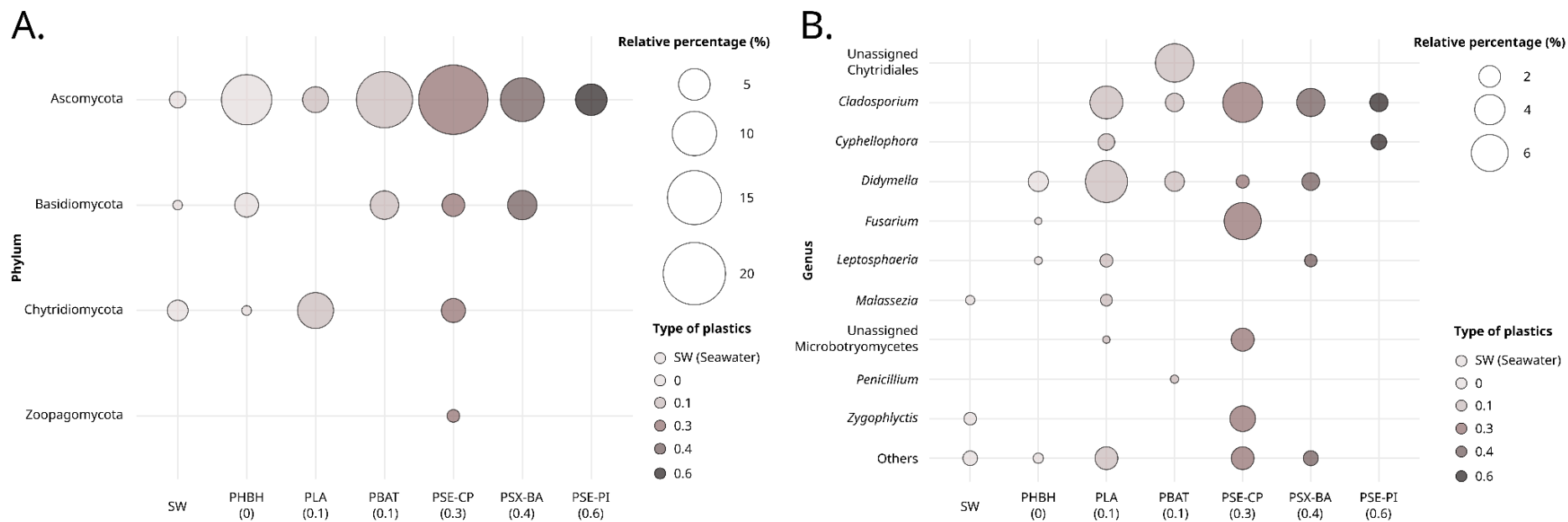
A.



B.

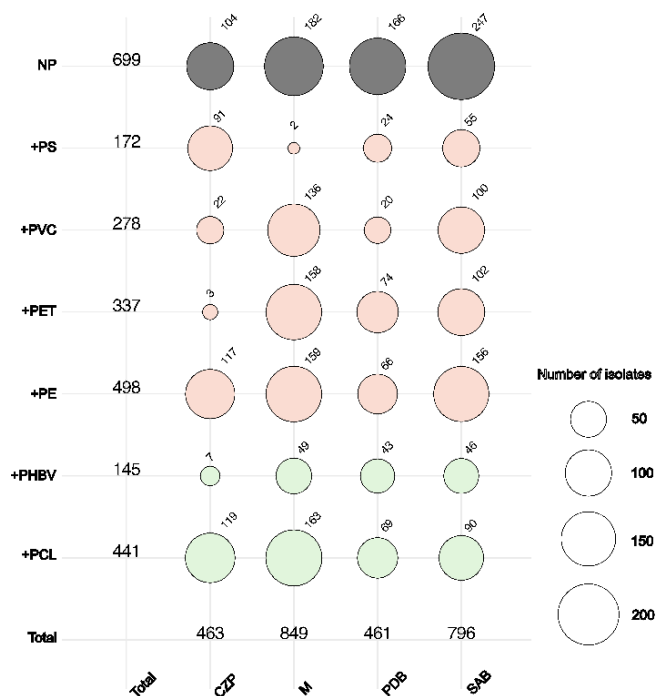


**Supplementary Figure 1** : Alpha diversity indices and their associated significance, based on the 18S dataset for the variables (A) “Type of plastic” and (B) “Time”.



**Supplementary Figure 2:** Bubble-plot representing the proportions of phyla (A) or genus (B), based on the 18S dataset, according to the variable “Toxicity on marine organisms”.

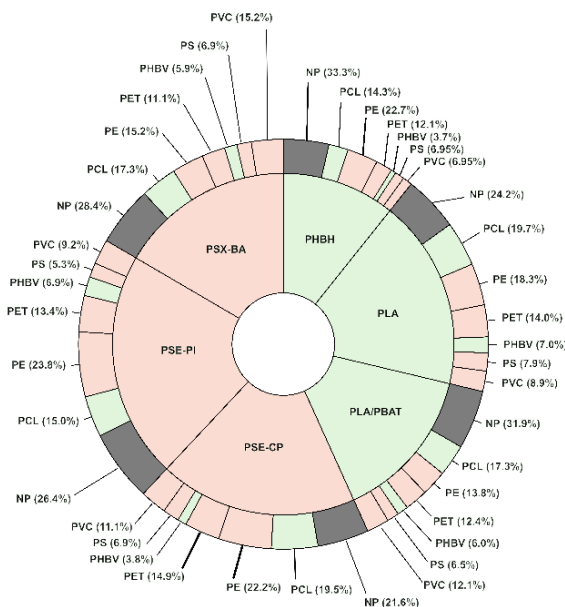
A.



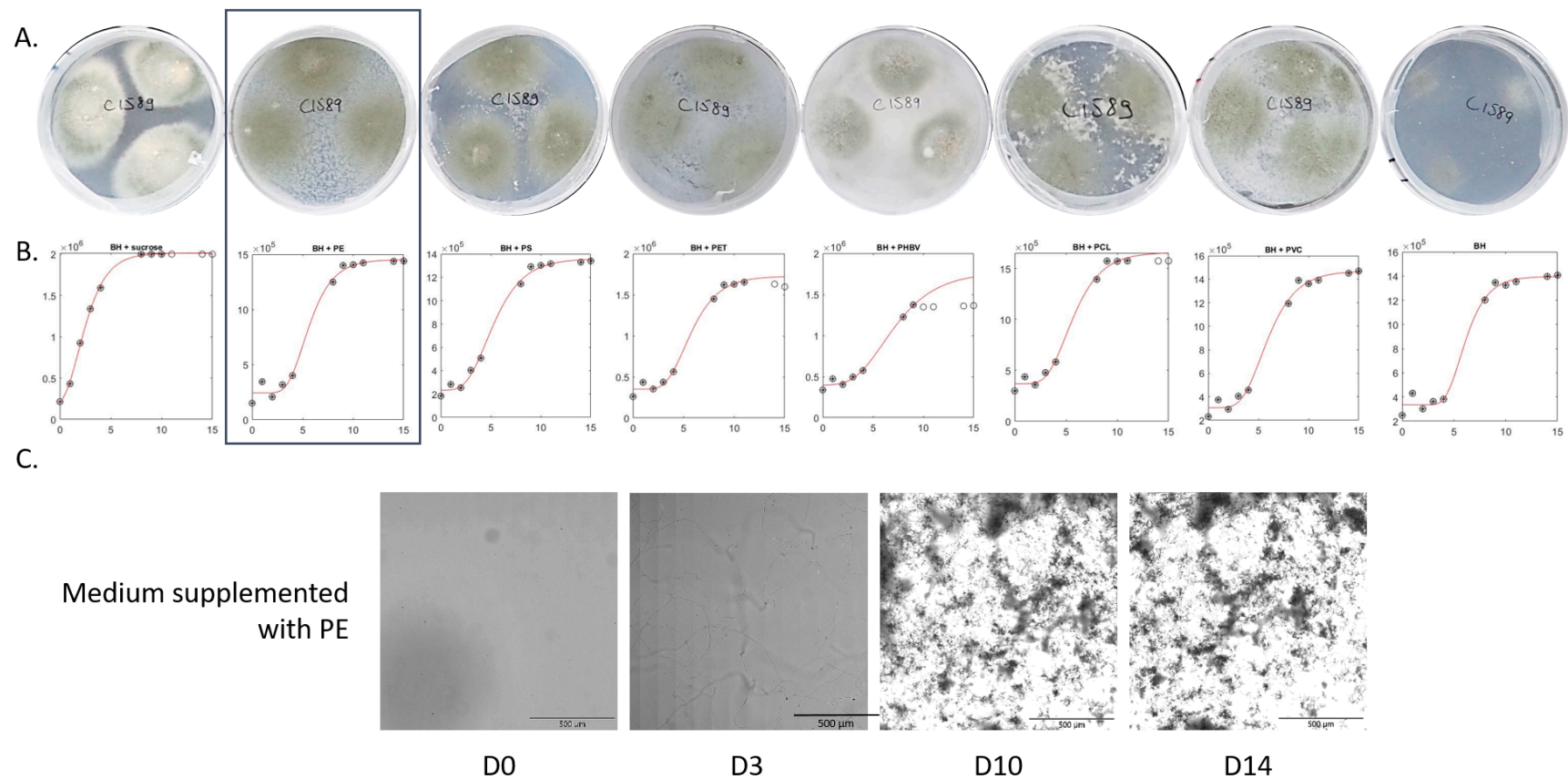
B.



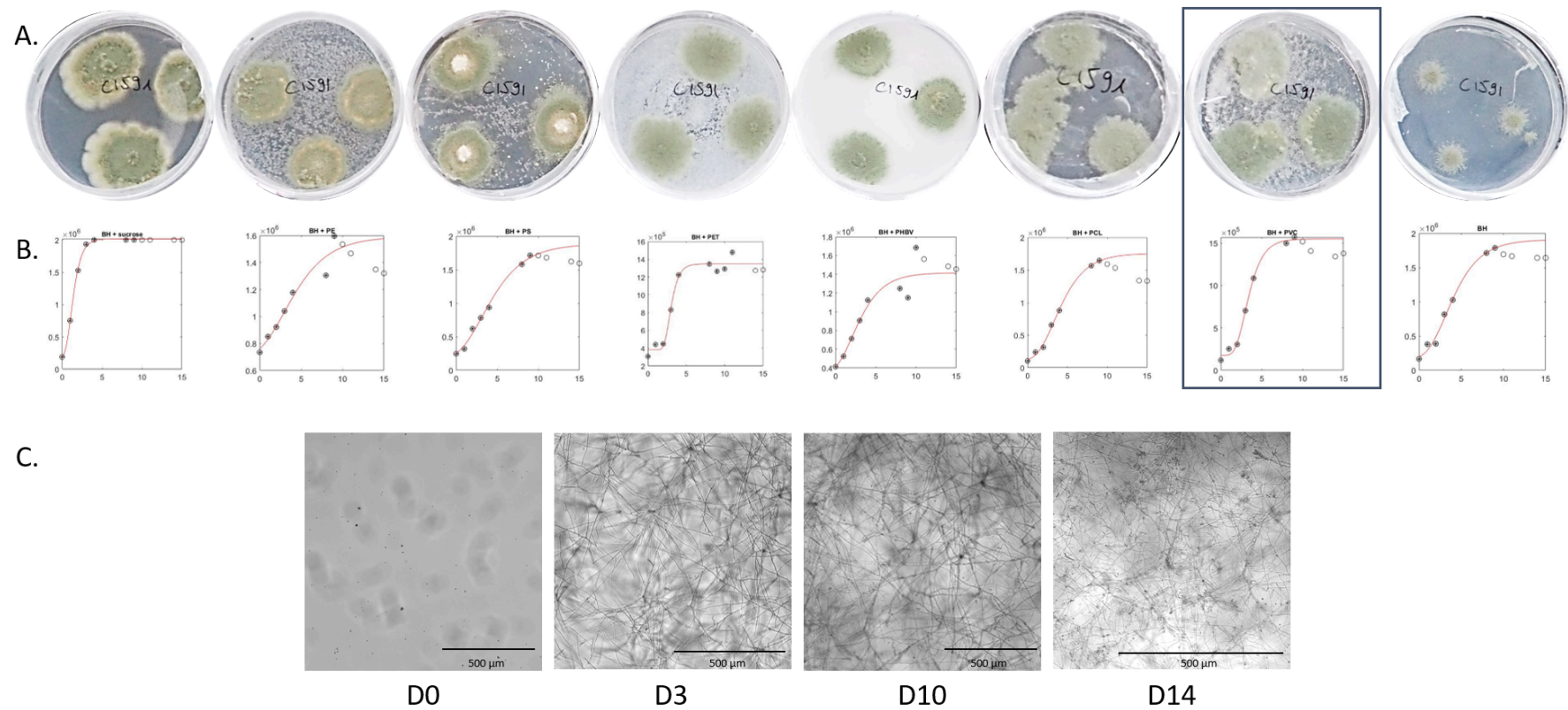
C.



**Supplementary Figure 3: Variability in fungal isolation frequencies.** A. Bubble plot illustrating fungal isolation frequencies based on the culture medium and polymer supplementation, including the control (NP means No Polymer in the culture medium). B. PieDonut plot depicting fungal isolation frequencies based on the original immersed polymers and immersion duration. C. PieDonut plot illustrating fungal isolation frequencies based on the original immersed polymers and the supplemented polymers. Colors used for the conventional polystyrene plastic variables ("PSE-PI", "PSE-CP", and "PSX-BA") are defined in shades of red, while the biodegradable plastics variables ("PLA", "PLA/PBAT," and "PHBH") are defined in shades of green.

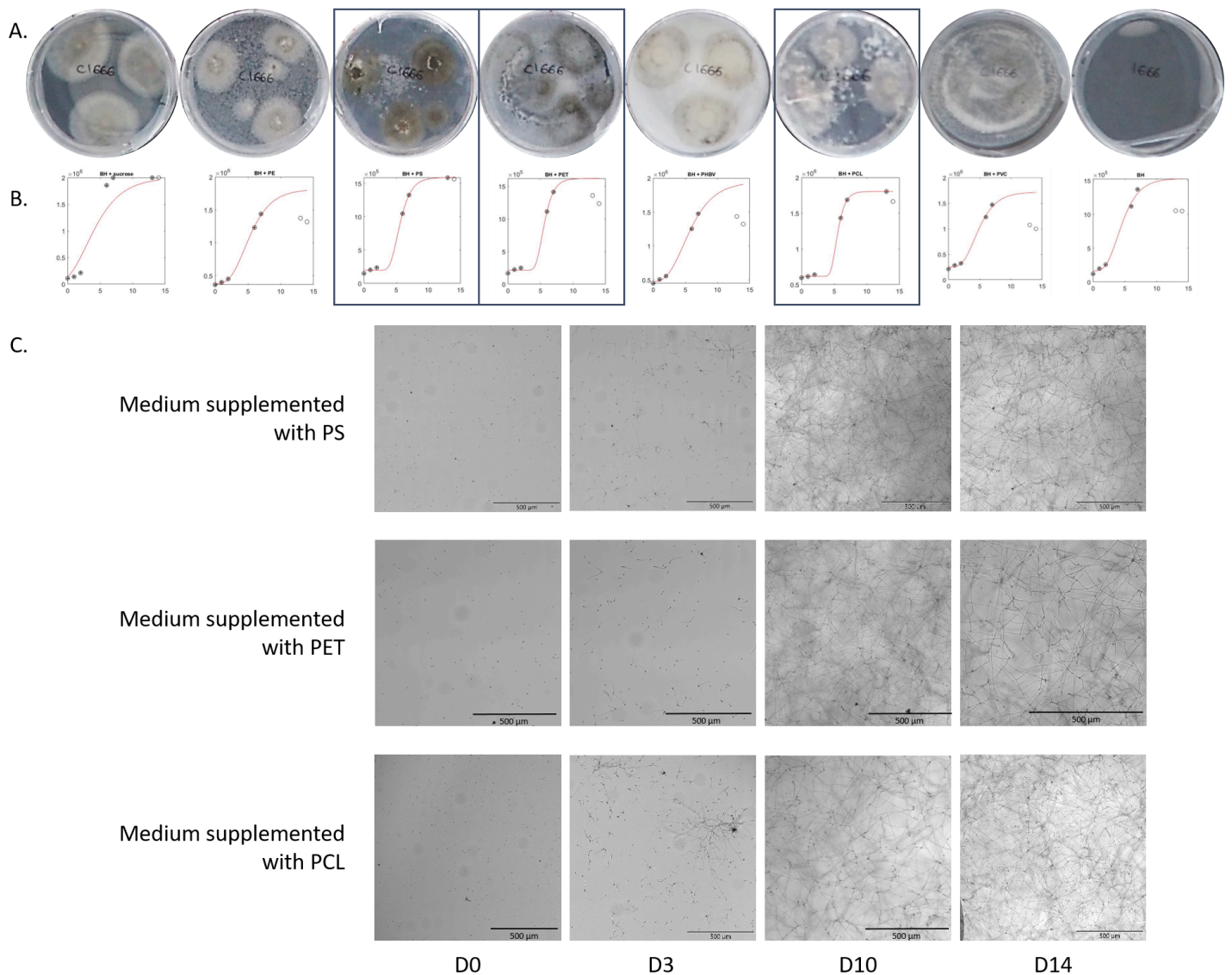


**Supplementary Figure 4: Ability of isolate C1589 to utilize polymers as carbon sources.** A. 14-days growth on Petri dishes (from left to right: positive control, PE, PS, PET, PHBV, PCL, PVC, negative control). B. Growth curves obtained using Laser Nephelometry (x-axis represents the time in days, y-axis represents the number of particles in million RNU, Relative Nephelometric Unit). NB: y-axis scales are different depending on the polymer-supplemented conditions. C. Visualization of fungal growth on PE-supplemented condition using OcelloScope, from inoculation (D0) to 14 days of growth (D14).



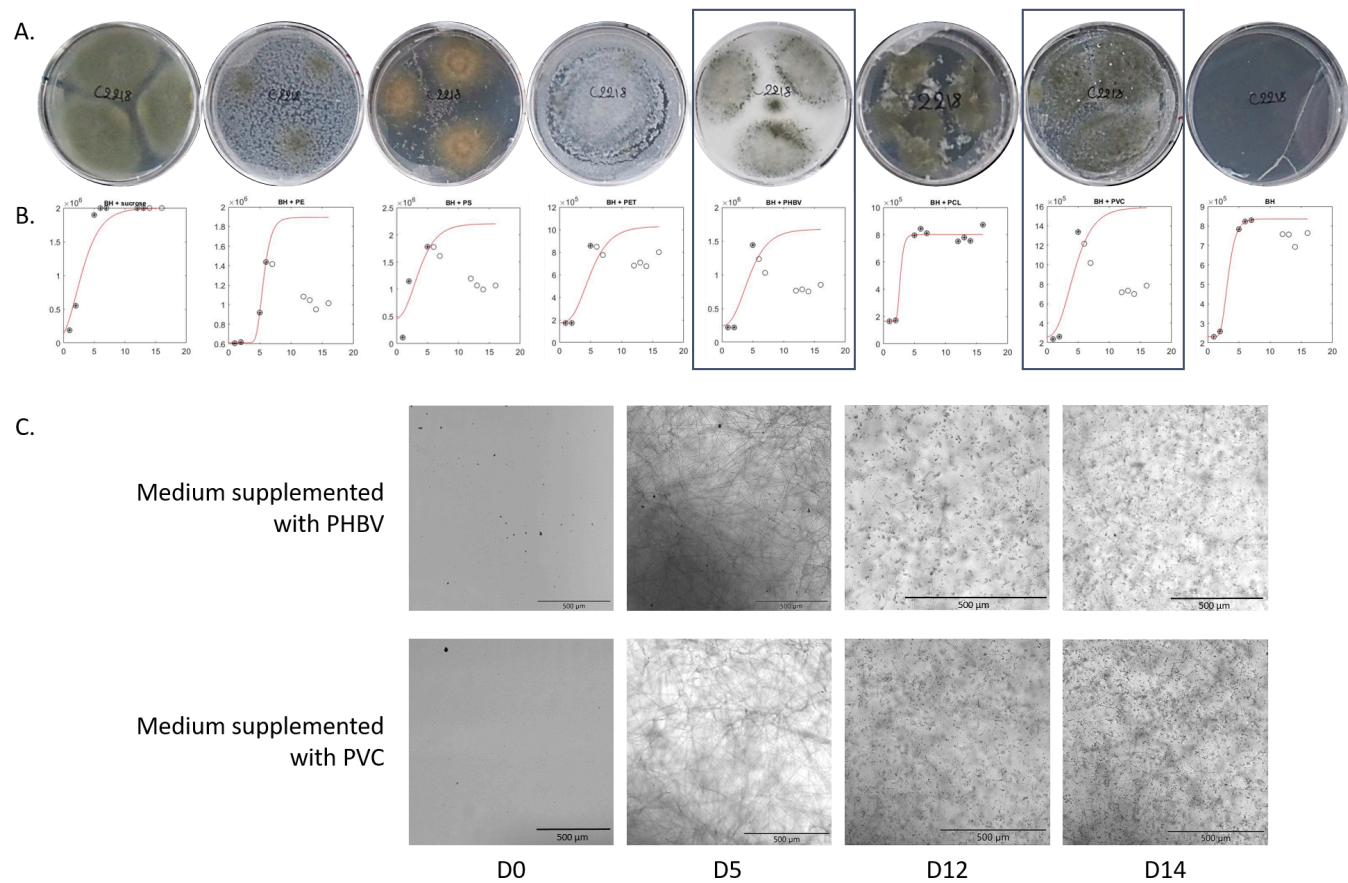
**Supplementary Figure 5: Ability of isolate C1591 to utilize polymers as carbon sources.** A. 14-days growth on Petri dishes (from left to right: positive control, PE, PS, PET, PHBV, PCL, PVC, negative control). B. Growth curves obtained using Laser Nephelometry (x-axis represents the time in days, y-axis represents the number of particles in million RNU, Relative Nephelometric Unit). *NB: y-axis scales are different depending on the polymer-supplemented conditions.* C. Visualization of fungal growth on PVC-supplemented condition using OcelloScope, from inoculation (D0) to 14 days of growth (D14)



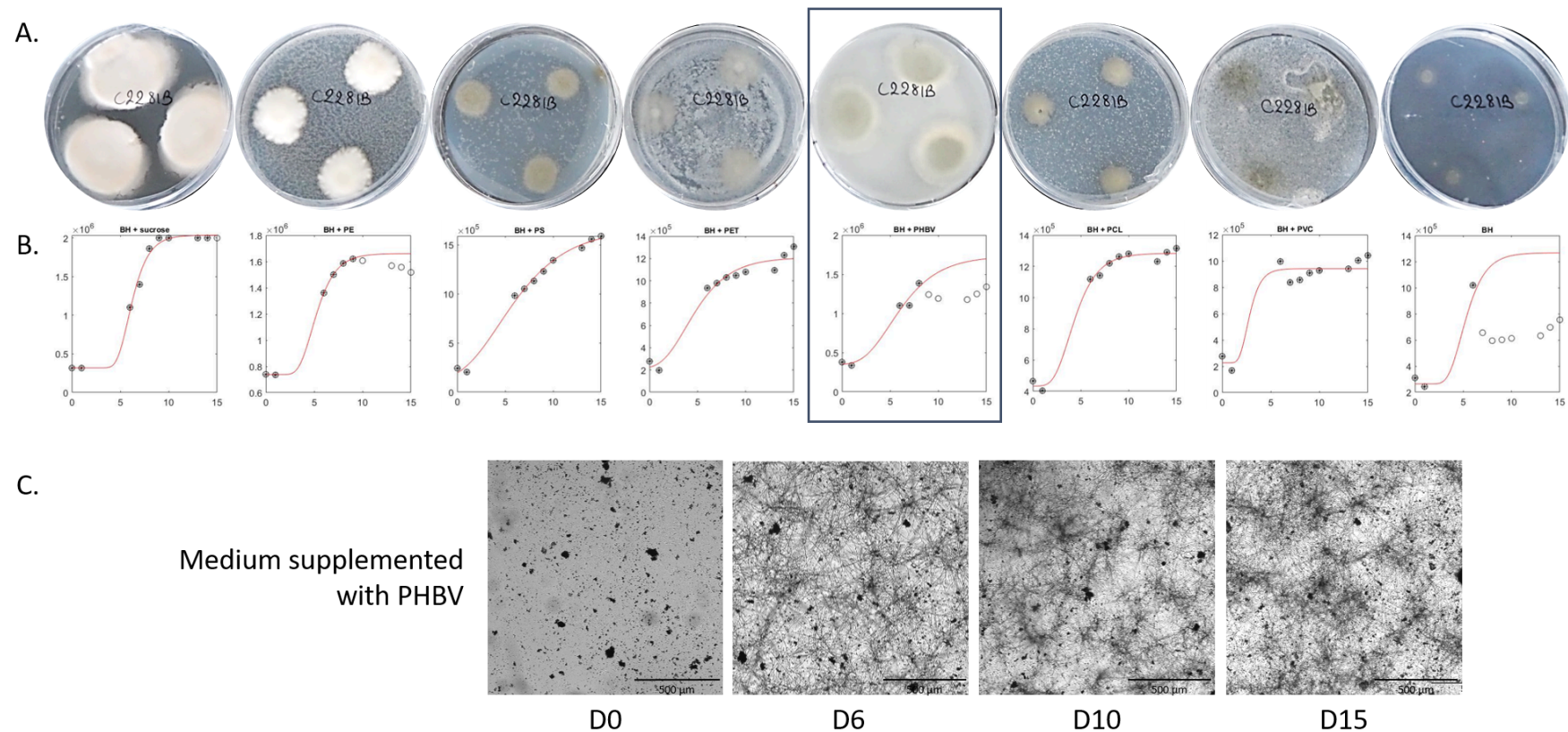


**Supplementary Figure 6: Ability of isolate C1666 to utilize polymers as carbon sources. A.** 14-days growth on Petri dishes (from left to right: positive control, PE, PS, PET, PHBV, PCL, PVC, negative control). **B.** Growth curves obtained using Laser Nephelometry (x-axis represents the time in days, y-axis represents the number of particles in million RNU, Relative Nephelometric Unit). *NB: y-axis scales are different depending on the polymer-supplemented conditions.* **C.** Visualization of fungal growth on condition supplemented with PS, PET and PCL using OcelloScope, from inoculation (D0) to 14 days of growth (D14).

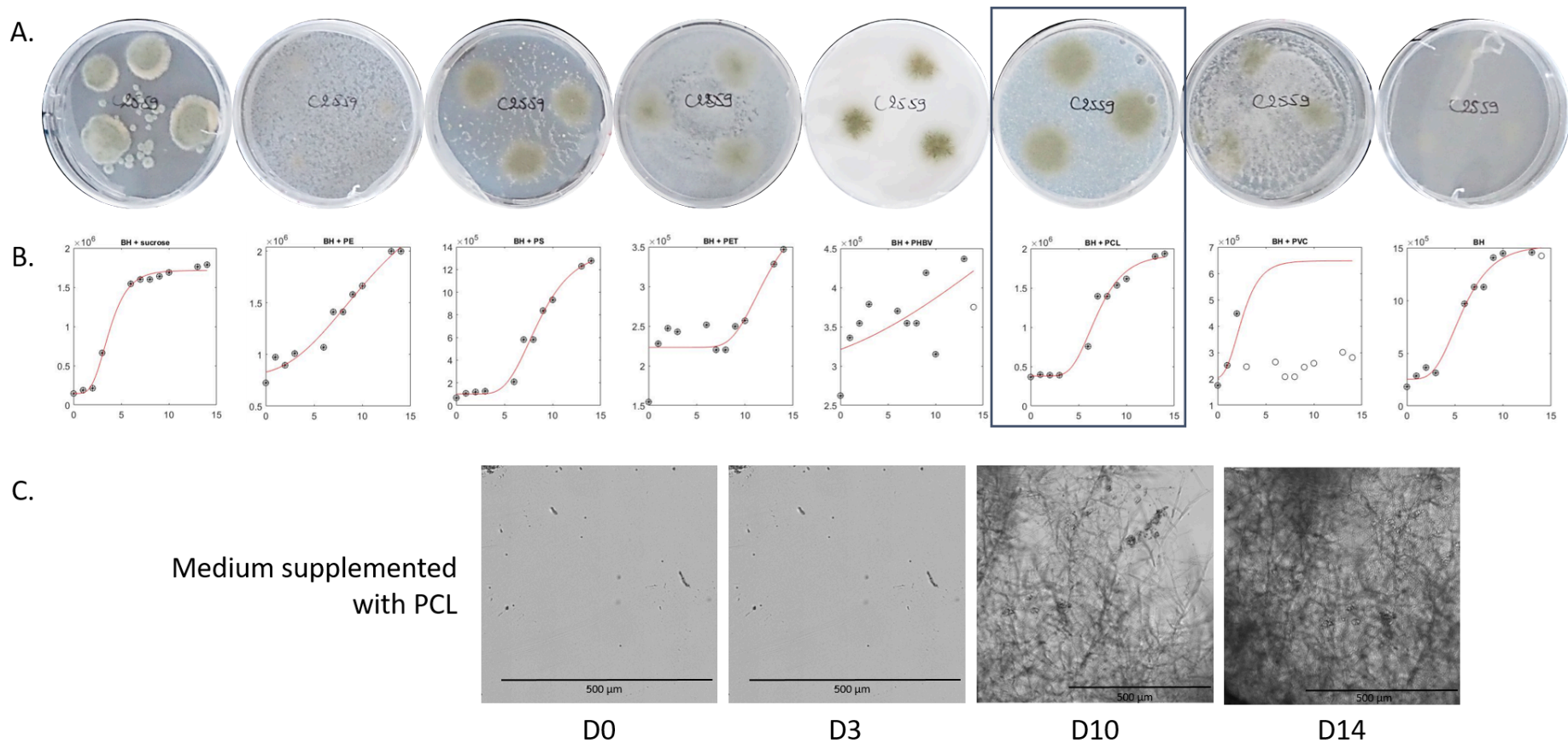




**Supplementary Figure 7: Ability of isolate C2218 to utilize polymers as carbon sources.** A. 14-days growth on Petri dishes (from left to right: positive control, PE, PS, PET, PHBV, PCL, PVC, negative control). B. Growth curves obtained using Laser Nephelometry (x-axis represents the time in days, y-axis represents the number of particles in million RNU, Relative Nephelometric Unit). NB: y-axis scales are different depending on the polymer-supplemented conditions. C. Visualization of fungal growth on condition supplemented with PHBV and PVC using OcelloScope, from inoculation (D0) to 14 days of growth (D14).



**Supplementary Figure 8: Ability of isolate C2281 to utilize polymers as carbon sources.** A. 15-days growth on Petri dishes (from left to right: positive control, PE, PS, PET, PHBV, PCL, PVC, negative control). B. Growth curves obtained using Laser Nephelometry (x-axis represents the time in days, y-axis represents the number of particles in million RNU, Relative Nephelometric Unit). *NB: y-axis scales are different depending on the polymer-supplemented conditions.* C. Visualization of fungal growth on condition supplemented with PHBV using OcelloScope, from inoculation (D0) to 15 days of growth (D15).



**Supplementary Figure 9: Ability of isolate C2559 to utilize polymers as carbon sources.** A. 14-days growth on Petri dishes (from left to right: positive control, PE, PS, PET, PHBV, PCL, PVC, negative control). B. Growth curves obtained using Laser Nephelometry (x-axis represents the time in days, y-axis represents the number of particles in million RNU, Relative Nephelometric Unit). *NB: y-axis scales are different depending on the polymer-supplemented conditions.* C. Visualization of fungal growth on PCL-supplemented condition with PHBV and PVC using OcelloScope, from inoculation (D0) to 14 days of growth (D14).





Chapitre III – Investigation exploratoire du génome de  
*Zalerion Maritima* ATCC 34329



## I- Préambule

L'un des objectifs de cette thèse était de séquencer le génome d'isolats jugés écologiquement pertinents et susceptibles de présenter un intérêt pour la dégradation de polymères. Toutefois, la constitution de la collection de cultures (Chapitre 2) a monopolisé un temps considérable, rendant cet objectif inatteignable dans le temps imparti.

Nous avons donc orienté nos efforts vers l'étude du champignon marin *Zalerion maritima* ATCC 34329, connu pour sa capacité à dégrader le polyéthylène (Paço *et al.* 2017). Cette étude collaborative a été initiée en 2022 avec l'équipe de l'Université d'Aveiro au Portugal à l'origine de cette découverte. Dans ce contexte, nous avons procédé à l'extraction de l'ADN de cet isolat, puis séquencé son génome et exploré *in silico* son génome sous l'angle de son potentiel métabolique.

Ce chapitre présente ainsi une analyse exploratoire du génome de *Z. maritima*. Il pourra être noté que le génome de *Z. maritima* ATCC 34329 a fait l'objet d'une publication dans *Genome Announcement* en 2023 par l'équipe de l'Université d'Aveiro (<https://journals.asm.org/doi/10.1128/mra.00017-23>) obtenu en utilisant la technologie Illumina NovaSeq 6000 XP)-En complément de cette approche, et afin d'avoir une séquence génomique de haute qualité, nous avons opté, pour notre part, pour une approche de séquençage « long read » via la technologie PacBio.

Nous décrivons ici la méthodologie de séquençage adoptée, les résultats de l'assemblage et de l'annotation du génome, ainsi que l'identification des gènes potentiellement associés à la dégradation des polymères.





## II- Article scientifique à soumettre

### 1. Introduction

Le champignon marin *Zalerion maritima*, appartenant à la famille des Lulworthiaceae (ordre des Sordariomycetes, classe des Ascomycota), a été identifié pour la première fois en 1963 par Anastasiou (Anastasiou 1963). Les recherches menées depuis les années 1970 ont révélé la capacité de *Z. maritima* à métaboliser divers polymères complexes, incluant la lignine (Sutherland *et al.* 1982), mais également le polyuréthane (PU) (Jones & Le Campion-Alsumard 1970) et le polyéthylène (PE) (Paço *et al.* 2017). Plusieurs espèces fongiques marines, ou isolées du milieu marin, présentent également un potentiel de dégradation de PE, comme *Alternaria alternata* FB1 (Gao *et al.* 2022) ou encore *Rhodotorula mucilaginosa* (Vaksmaa *et al.* 2023). *Z. maritima* ATCC 34329, provenant des eaux côtières portugaises, a présenté des capacités de dégradation de granulés de PE dans un milieu de croissance minimal, entraînant une diminution de la masse et de la taille des granulés. Les spectres FTIR-ATR et RMN des échantillons lyophilisés de *Z. maritima* ont de plus montré une diminution de la concentration en lipides et en protéines, et une augmentation de la teneur en glucides, en corrélation avec le temps d'exposition aux microplastiques (Paço *et al.* 2017). L'aptitude de ce champignon à dégrader du PE suggère son potentiel biotechnologique. Dans le but d'approfondir notre compréhension des processus métaboliques liés à la biodégradation de polymères par *Z. maritima*, le séquençage « long read » et l'annotation du génome de la souche ATCC 34329 ont été réalisés.

### 2. Matériels et méthodes

#### 2.1. Séquençage du génome de *Z. maritima* ATCC 34329

*Z. maritima* ATCC 34329 a été cultivé, en triplicata, sur milieu PDA, supplémenté en sels marins (Sigma Aldrich). L'extraction de l'ADN génomique a été réalisée suivant le protocole CTAB (Fulton *et al.* 1995) en ajoutant une étape de purification finale sur colonnes de Qiagen Genomic Tips (Qiagen). L'ADN a ensuite été fragmenté grâce à l'utilisation de g-TUBE (Covaris) pour obtenir des fragments supérieurs à 15 kbp. Puis, une librairie a été constituée en suivant

le protocole PacBio avec le kit « SMRT bell Express Template Preparation Kit 2.0 ». Une fois la librairie constituée, les fragments supérieurs à 20 kbp ont été sélectionnés sur le système BluePippin puis séquencés. Les séquences nucléotidiques obtenues ont ensuite été assemblées en contigs par l'outil de PacBio (Falcon). L'annotation structurale des gènes a été ensuite faite par Genemark-ES (Ter-Hovhannisyan *et al.* 2008) (en spécifiant que l'origine fongique du génome analysé), afin de prédire les gènes (nombre, position des introns, etc.) et en déduire le protéome. Une fois ces gènes prédits et les séquences protéiques correspondantes obtenues, une analyse Pfam (Finn *et al.* 2014) a été réalisée. Cette recherche permet d'effectuer une annotation fonctionnelle automatique des gènes en se basant sur les acides aminés conservés à travers différentes espèces. L'annotation automatique se base sur les profils HMM (Hidden Markov models) des protéines.

## 2.2. Constitution d'une liste de séquences d'intérêt

Une analyse bibliographique a été réalisée afin de constituer une liste d'enzymes impliquées dans la dégradation de polymères, principalement en utilisant les bases de données PAZy - The Plastics-Active Enzymes Database (<https://pazy.eu/doku.php>) (Buchholz *et al.* 2022) et PMBD: a Plastics Microbial Biodegradation Database (<http://pmbd.genome-mining.cn/home/>) (Gan & Zhang 2019). Différents jeux de données ont ainsi été constitués, sous forme de fichiers fasta, contenant une liste de séquences protéiques d'intérêt par polymère plastique ciblé, à savoir polyéthylène (PE), polyéthylène terephthalate (PET), polyamide (PA), polylactic acid (PLA), polyurethane (PU), polybutylène adipate teraphthalate (PBAT) et polyhydroxyalcanoate (PHA) (Annexes 1 à 6). Ces séquences protéiques correspondent à des gènes codant des protéines/enzymes d'intérêt.

## 2.3. Recherche de gènes d'intérêt dans le génome de *Z. maritima* ATCC 34329

A partir du génome, des BLAST de type blastp (recherche dans la base de données locales protéiques avec des séquences de requêtes protéiques) ont été réalisés sous Galaxy (Galaxy Community 2022) avec une valeur seuil de e-value de  $10^{-6}$ . Les hits positifs qui présentaient des valeurs de e-value inférieures à  $10^{-20}$  ont été pris en compte, afin de maintenir un niveau de stringence élevé.

Une annotation fonctionnelle plus fine a été réalisée grâce à plusieurs prédicteurs, à savoir TMHMM (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>) (Krogh *et al.* 2001) permettant de déterminer dans la protéine s'il existe des domaines transmembranaires, UniProt (<https://www.uniprot.org/>) (The UniProt Consortium 2023) comparant les protéines à une banque de données protéiques de haute qualité couplées à des informations fonctionnelles, et Phyre2 (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index>) (Kelley *et al.* 2015) permettant de prédire les structures secondaires et tertiaires des protéines en utilisant AlphaFold 2 (Yang *et al.* 2023) se basant sur des structures tridimensionnelles obtenues par cristallographie (Banque PDB) afin d'obtenir des informations complémentaires sur les protéines mises en évidence (enzymes sécrétées ou non, transmembranaires ou non, famille protéique, activité, etc.).

Des recherches basiques de séquences protéiques prédites par InterProScan (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/about/interproscan/>) (Jones *et al.* 2014), dont l'assignation amène à des enzymes de type oxido-réductases ont également été effectuées, en recherchant notamment les laccases et lignine-peroxidases.

### 3. Résultats

#### 3.1. Assemblage et annotation

L'extraction d'ADN de *Z. maritima* ATCC 34329 a permis d'obtenir une concentration de 64,9 µg/mL. Les différents indicateurs génomiques sont présentés dans le Tableau 1.

L'avantage du séquençage Long Read (PacBio) réside dans le fait qu'il permet un assemblage plus rapide et plus précis que l'assemblage d'un séquençage en Illumina. En effet, les fragments séquencés sont de 30 kbp, permettant d'assembler de grands génomes rapidement. De plus, l'assemblage génère moins de contigs ou de petites séquences. Il est donc possible de construire un génome en entier *de novo* (sans introduire un génome de référence). Les informations fournies par la technologie Illumina peuvent être manquantes et fragmentées. Si on compare les informations obtenues avec le séquençage avec la technologie PacBio (Tableau 1), il est possible de voir que la taille du génome est plus élevée. Cela peut

être dû à une perte d'informations, liée à la technologie Illumina. L'assemblage du génome n'a généré que 122 contigs par rapport aux 2,200 en Illumina. La longueur moyenne des contigs est plus élevée en PacBio. La recherche des gènes BUSCO (<https://busco.ezlab.org/>) (Manni *et al.* 2021) ne donne que 95% de gènes retrouvés par rapport à 98% pour les gènes séquencés en Illumina. Cependant, les auteurs (Paço *et al.* 2023) n'ont pas indiqué la banque de références utilisée. La différence peut s'expliquer par ce manque d'informations. Le génome obtenu en Illumina présente une profondeur plus importante mais il se peut que certaines parties du génome soit manquante. D'ailleurs, il est possible de remarquer que la technologie du PacBio permet de prédire une centaine de gènes supplémentaires (10 920 en PacBio par rapport à 10 802 en Illumina). La différence du nombre de CAZymes s'explique par le fait que notre recherche a été faite manuellement par les créateurs de la banque de données ScanDB. Parfois, ScanDB génère des faux positifs, ce qui pourrait expliquer la différence obtenue. Ce nouveau séquençage avec la technologie Long Read a donc permis de compléter de manière sensible les informations du précédent séquençage.

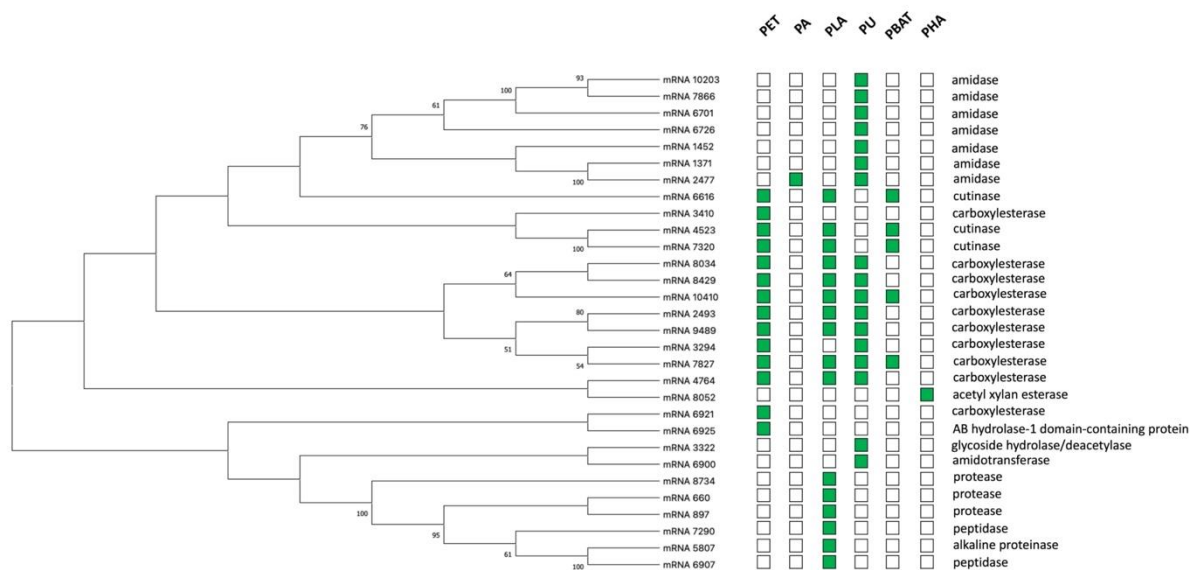
**Tableau 1. Ensemble de métriques issues de l'assemblage et de l'annotation du génome de *Z. maritima* ATCC 34329**

Indicateurs	Séquençage Illumina (Paço et al 2017)	Séquençage PacBio (cette étude)
Longueur totale de l'assemblage (bp)	58 434 198	60 562 273
Nombre de contigs (≥500 bp)	2 208	<b>122</b>
%GC	44,39	43,89
N50 (bp)	66 184	<b>1 178 615</b>
Complétude BUSCO (%)	98,35	94,7 (contre Ascomycota)
Profondeur de séquençage (x)	<b>126</b>	29
Nombre de gènes prédits avec AUGUSTUS/GENEMARK-ES	10 802	10 920
Nombre de CAZymes	491	436
Nombre de régions identifiées avec antiSMASH	1 823	
Nombre de clusters de gènes biosynthétiques antiSMASH	12	17

Nombre de gènes annotés contre la base de données NRA	8 858	
Nombre de gènes fonctionnellement annotés contre KEGG	677	
Nombre de gènes		
Attribués en utilisant des termes GO	4 932	
Attribués en utilisant InterPro	9 875	
Attribués en utilisant EggNOG	7 563	

### 3.2. Analyse du potentiel métabolique

L'analyse du génome de *Z. maritima* ATCC 34329 à partir de la base de données constituée a permis de mettre en évidence 30 gènes codant des enzymes d'intérêt car potentiellement impliquées dans la dégradation de polymères (Figure 1). Ces enzymes sont principalement des hydrolases, de type cutinases, carboxylestérases, amidases et protéases. Toutes sont excrétées et peuvent donc être caractérisées comme exo-enzymes, sur la base des analyses TMHMM et UniProt. Une analyse binaire (présence/absence) permet de mettre en évidence un nombre relativement important d'enzymes putatives impliquées dans la dégradation de PU (17/30), de PLA (16/30) et de PET (14/30). A l'inverse, les capacités de dégradation de PBAT (5/30), de PHA (1/30) et de PA (1/30) apparaissent limitées. Certaines enzymes apparaissent très spécifiques, comme par exemple les amidases, impliquées dans la dégradation de PU et PA, et les protéases/peptidases, impliquées dans la dégradation de PLA, ou une acétyl xylane estérase impliquée dans la dégradation de PHA. A l'inverse, d'autres enzymes présentent un spectre plus large, notamment les cutinases, impliquées dans la dégradation de PET, PLA et PBAT, ou les carboxylestérases, impliquées dans la dégradation de PET, PLA, PU et PBAT.



**Figure 1. Occurrence et activité potentielle des gènes codant des hydrolases dans le génome de *Z. maritima* ATCC 34329.**

En parallèle de cette analyse centrée sur les hydrolases, une recherche centrée sur les oxydoréductases a été réalisée, en se concentrant sur les laccases et les peroxydases. De cette analyse préliminaire, 3 gènes codant des laccases extracellulaires ont été identifiés, ainsi qu'un gène codant une lignine peroxydase.

Enfin, une recherche spécifique d'hydrophobines, molécules à activité biosurfactante, a été réalisée et a permis de mettre en évidence un gène codant une hydrophobine dans le génome de *Z. maritima* ATCC 34329

#### 4. Discussion

Les plastiques sont des polymères de haut poids moléculaire, hydrophobes et insolubles, des facteurs rendant complexe leur biodégradation (Wei & Zimmermann 2017). Les micro-organismes fongiques, et notamment les champignons filamenteux, présentent des capacités de pénétration via leurs hyphes fongiques dans différents types de substrats, de sécrétion d'exo-enzymes et de production de biosurfactants, comme par exemple des hydrophobines, augmentant leur adhésion aux substrats hydrophobes (Sánchez 2020). De plus, une des

spécificités des exo-enzymes fongiques est leur non-spécificité, leur permettant de décomposer différents polymères plastiques (Luz *et al.* 2019).

L'analyse du génome de *Z. maritima* ATCC 34329 a révélé un nombre relativement important de séquences protéiques, prédites par InterProScan, impliquées dans la production d'hydrolases, notamment des cutinases, carboxylestérases, et protéases. Ces hydrolases jouent un rôle crucial en rendant la surface des plastiques plus hydrophile, facilitant ainsi leur biodégradation (Vertommen *et al.* 2005). Ces enzymes contribuent spécifiquement à la décomposition de polymères comme le PET et le PUR, mais également le PLA, attaquant les liaisons hydrolysables de ces matériaux (Cregut *et al.* 2013; Srikanth *et al.* 2022; Webb *et al.* 2013). Les cutinases sont des estérases extracellulaires multifonctionnelles, capables de dégrader les liaisons esters d'une grande diversité de substrats (Temporiti *et al.* 2022). L'analyse du génome de *Z. maritima* ATCC 34329 a mis en évidence des capacités putatives de dégradation de PET, PLA et PBAT via des cutinases. L'analyse génomique a également mis en évidence de nombreux gènes codant des carboxylestérases et pouvant potentiellement mener à la dégradation de PET, PLA, PU, PBAT et PHA. Sur la base de nos résultats, les protéases mises en évidence apparaissent très spécifiques et liées à la dégradation du PLA. Enfin, des amidases mises en évidence apparaissent également très spécifiques et liées à la dégradation du PU et du PA, avec une spécificité forte pour une amidase envers le PA. Cela confirme de précédents travaux qui ont démontré des activités de dégradation de PU et PA par des champignons ascomycètes et basidiomycètes via la synthèse de protéases et d'amidases (Okal *et al.* 2023; Temporiti *et al.* 2022).

Parallèlement, les oxydoréductases, y compris les laccases et les peroxydases, décomposent les plastiques possédant des liaisons carbone-carbone (C-C) robustes, comme le PE, PS, PP, et PVC, en composés plus simples, tels que des oligomères, dimères et monomères (Temporiti *et al.* 2022). De façon cohérente, l'analyse du génome de *Z. maritima* ATCC 34329 a révélé un nombre relativement important de gènes codant des laccases. Récemment, Santacruz-Juárez *et al.* (2021) ont proposé des voies hypothétiques pour la dégradation enzymatique du PE en condition aérobie par des micro-organismes fongiques, dont une voie centrée sur les laccases, en combinaison avec l'action d'hydrophobines qui agissent comme biosurfactants permettant ainsi la catalyse enzymatique. Dans cette voie hypothétique, les laccases, possédant un haut



potentiel rédox, entraînent l'oxydation des molécules avoisinantes et génèrent des radicaux libres de PE, qui seraient ensuite clivés pour générer des radicaux libres d'alcane, eux-mêmes oxydés en alcools (e.g. éthanol) puis en aldéhydes (e.g. éthanal), puis en acides carboxyliques (e.g. acide acétique) qui entreraient dans le cycle de Krebs pour être minéralisés en CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O. La détection, dans le génome de *Z. maritima* ATCC 34329, de gènes codant des hydrophobines, des aldéhyde dehydrogénases (permettant l'oxydation des aldéhydes) et des hydrolases d'esters carboxyliques (permettant potentiellement l'hydrolyse de composés esters en alcools et acides carboxyliques) représente autant d'indices supplémentaires amenant à une meilleure compréhension de la capacité de cette espèce à dégrader des polyoléfinés comme le PE. Dans leur étude, Santacruz-Juárez *et al.* (2021) ont également proposé une voie centrée sur les lignine-peroxidases et les peroxydases à manganèse. Si aucun gène codant des peroxidases à manganèse n'a été détecté dans le génome de *Z. maritima* ATCC 34329, un gène codant une lignine-peroxidase a été détecté.

Cette première analyse exploratoire reste bien entendu parcellaire et devra être complétée par une analyse de transcriptomique comparative afin de mettre en évidence les voies de dégradation spécifique ou non du PE. Egalement, étant donné le caractère "couteau-suisse" de cette espèce, avec sa capacité putative à dégrader de nombreux polymères, des analyses de transcriptomique comparative sont également à mener sur d'autres polymères comme le PET, le PLA et le PU en priorité, et de manière secondaire le PA, PBAT et PHA. Ces analyses de transcriptomique comparative devront être complétées par des approches permettant de certifier que ces polymères sont métabolisés par cet isolat, notamment par IRTF voire via l'utilisation de polymères marqués aux isotopes stables, approche consistant à utiliser un polymère marqué avec du <sup>13</sup>C et à suivre, par spectrométrie de masse, son incorporation dans les voies métaboliques.

Enfin, une nouvelle espèce fongique marine appartenant au genre *Zalerion* ayant été récemment isolée et décrite, *i.e.* *Z. pseudomaritima* (Gonçalves *et al.* 2021), il apparaît d'intérêt de comparer son potentiel à celui du *Z. maritima* ATCC 34329. L'utilisation d'approches comparatives de génomique et transcriptomique serait particulièrement d'intérêt dans ce contexte.

## Remerciements

Nous remercions le Dr. Yann Fichou ([GGB, UMR 1078](#)) pour le séquençage nucléotidique du génome sur le Sequel 1 et le Dr. Annie Lebreton pour son aide précieuse et ses conseils pour l'annotation du génome de *Zalerion maritima* ATCC 34329. Nous remercions enfin chaleureusement le Dr. Nicolas Terrapon et Elodie Drula pour leur aide à l'annotation des gènes codants les CAZymes.

## Références

- Anastasiou, C.J. (1963) The genus *Zalerion moore & meyers*. *Canadian Journal of Botany* 41: 1135–1139. <https://doi.org/10.1139/b63-093>
- Buchholz, P.C.F., Feuerriegel, G., Zhang, H., Perez-Garcia, P., Nover, L.-L., Chow, J., Streit, W.R. & Pleiss, J. (2022) Plastics degradation by hydrolytic enzymes: The plastics-active enzymes database-PAZy. *Proteins* 90: 1443–1456. <https://doi.org/10.1002/prot.26325>
- Cregut, M., Bedas, M., Durand, M.-J. & Thouand, G. (2013) New insights into polyurethane biodegradation and realistic prospects for the development of a sustainable waste recycling process. *Biotechnology Advances* 31: 1634–1647. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.08.011>
- Finn, R.D., Bateman, A., Clements, J., Coggill, P., Eberhardt, R.Y., Eddy, S.R., Heger, A., Hetherington, K., Holm, L., Mistry, J., Sonnhammer, E.L.L., Tate, J. & Punta, M. (2014) Pfam: the protein families database. *Nucleic Acids Research* 42: D222–D230. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1223>
- Fulton, T.M., Chunwongse, J. & Tanksley, S.D. (1995) Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 13: 207–209. <https://doi.org/10.1007/BF02670897>
- Galaxy Community (2022) The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2022 update. *Nucleic Acids Research* 50: W345–W351. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac247>
- Gan, Z. & Zhang, H. (2019) PMBD: a Comprehensive Plastics Microbial Biodegradation Database. *Database: The Journal of Biological Databases and Curation* 2019: baz119. <https://doi.org/10.1093/database/baz119>
- Gao, R., Liu, R. & Sun, C. (2022) A marine fungus *Alternaria alternata* FB1 efficiently degrades polyethylene. *Journal of Hazardous Materials* 431: 128617. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128617>
- Gonçalves, M.F.M., Abreu, A.C., Hilário, S. & Alves, A. (2021) Diversity of marine fungi associated with wood baits in the estuary Ria de Aveiro, with descriptions of *Paralulworthia halima*, comb. nov., *Remispora submersa*, sp. nov., and *Zalerion pseudomaritima*, sp. nov. *Mycologia* 113: 664–683. <https://doi.org/10.1080/00275514.2021.1875710>
- Jones, E.B.G. & Le Campion-Alsumard, T. (1970) The biodeterioration of polyurethane by marine fungi. *International Biodeterioration Bulletin*. Available from: <https://ibbsonline.org/download/journals/IBB%20Vol%2006%201970%20-%20No%203.pdf#page=42> (February 16, 2024)

- Jones, P., Binns, D., Chang, H.-Y., Fraser, M., Li, W., McAnulla, C., McWilliam, H., Maslen, J., Mitchell, A., Nuka, G., Pesseat, S., Quinn, A.F., Sangrador-Vegas, A., Scheremetjew, M., Yong, S.-Y., Lopez, R. & Hunter, S. (2014) InterProScan 5: genome-scale protein function classification. *Bioinformatics* 30: 1236–1240. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu031>
- Kelley, L.A., Mezulis, S., Yates, C.M., Wass, M.N. & Sternberg, M.J.E. (2015) The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nature Protocols* 10: 845–858. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.053>
- Krogh, A., Larsson, B., von Heijne, G. & Sonnhammer, E.L. (2001) Predicting transmembrane protein topology with a hidden Markov model: application to complete genomes. *Journal of Molecular Biology* 305: 567–580. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.4315>
- Luz, J.M.R. da, Silva, M. de C.S. da, Santos, L.F. dos, Kasuya, M.C.M., Luz, J.M.R. da, Silva, M. de C.S. da, Santos, L.F. dos & Kasuya, M.C.M. (2019) Plastics Polymers Degradation by Fungi. *Microorganisms*. IntechOpen.
- Manni, M., Berkeley, M.R., Seppey, M. & Zdobnov, E.M. (2021) BUSCO: Assessing Genomic Data Quality and Beyond. *Current Protocols* 1: e323. <https://doi.org/10.1002/cpz1.323>
- Okal, E.J., Heng, G., Magige, E.A., Khan, S., Wu, S., Ge, Z., Zhang, T., Mortimer, P.E. & Xu, J. (2023) Insights into the mechanisms involved in the fungal degradation of plastics. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 262: 115202. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115202>
- Paço, A., Duarte, K., da Costa, J.P., Santos, P.S.M., Pereira, R., Pereira, M.E., Freitas, A.C., Duarte, A.C. & Rocha-Santos, T.A.P. (2017) Biodegradation of polyethylene microplastics by the marine fungus *Zalerion maritimum*. *Science of The Total Environment* 586: 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.017>
- Sánchez, C. (2020) Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: An overview of macro- and microplastics biodegradation. *Biotechnology Advances* 40: 107501. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107501>
- Santacruz-Juárez, E., Buendia-Corona, R.E., Ramírez, R.E. & Sánchez, C. (2021) Fungal enzymes for the degradation of polyethylene: Molecular docking simulation and biodegradation pathway proposal. *Journal of Hazardous Materials* 411: 125118. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125118>
- Srikanth, M., Sandeep, T.S.R.S., Sucharitha, K. & Godi, S. (2022) Biodegradation of plastic polymers by fungi: a brief review. *Bioresources and Bioprocessing* 9: 42. <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00532-4>
- Sutherland, J.B., Crawford, D.L. & Speedie, M.K. (1982) Decomposition of C-Labeled Maple and Spruce Lignin by Marine Fungi. *Mycologia* 74: 511–513. <https://doi.org/10.2307/3792976>

- Temporiti, M.E.E., Nicola, L., Nielsen, E. & Tosi, S. (2022) Fungal Enzymes Involved in Plastics Biodegradation. *Microorganisms* 10: 1180.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms10061180>
- Ter-Hovhannisyán, V., Lomsadze, A., Chernoff, Y.O. & Borodovsky, M. (2008) Gene prediction in novel fungal genomes using an ab initio algorithm with unsupervised training. *Genome Research* 18: 1979–1990. <https://doi.org/10.1101/gr.081612.108>
- The UniProt Consortium (2023) UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Research* 51: D523–D531. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1052>
- Vaksmáa, A., Polerecky, L., Dombrowski, N., Kienhuis, M.V.M., Posthuma, I., Gerritse, J., Boekhout, T. & Niemann, H. (2023) Polyethylene degradation and assimilation by the marine yeast *Rhodotorula mucilaginosa*. *ISME Communications* 3: 1–8.  
<https://doi.org/10.1038/s43705-023-00267-z>
- Vertommen, M.A.M.E., Nierstrasz, V.A., Veer, M. van der & Warmoeskerken, M.M.C.G. (2005) Enzymatic surface modification of poly(ethylene terephthalate). *Journal of Biotechnology* 120: 376–386. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.06.015>
- Webb, H.K., Arnott, J., Crawford, R.J. & Ivanova, E.P. (2013) Plastic Degradation and Its Environmental Implications with Special Reference to Poly(ethylene terephthalate). *Polymers* 5: 1–18. <https://doi.org/10.3390/polym5010001>
- Wei, R. & Zimmermann, W. (2017) Microbial enzymes for the recycling of recalcitrant petroleum-based plastics: how far are we? *Microbial Biotechnology* 10: 1308–1322.  
<https://doi.org/10.1111/1751-7915.12710>
- Yang, Z., Zeng, X., Zhao, Y. & Chen, R. (2023) AlphaFold2 and its applications in the fields of biology and medicine. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 8: 1–14.  
<https://doi.org/10.1038/s41392-023-01381-z>

## Annexe 1 : Liste des séquences protéiques d'intérêt potentiellement impliquées dans la dégradation du PET

>WP\_054022242.1\_PET  
 MNFPASRLMQAAVLGGLMAVSAATAQTNPYARGPNPTAASLEAS  
 AGPFTVRSFTVSRPSGYGAGTVYY  
 PTNAGGTVGAIAIVPGYARQSSIKWWGPRLASHGFVITIDNSTLD  
 QPSSRSSQQMAALRQVASLNGT  
 SSSPIYGKVDTARMGMVWWSMGGGGLISAANNPSLKAAAPQAPW  
 DSSTNFSSVTPTLIFACENDSIAP  
 VNSSALPIYDSMSRNKQFLEINGGSHSCANSNGSNQALIGKKGVAW  
 MKRFMDNDTRYSTFACENPNSTR  
 VSDFRANCIS  
 >MBQ0729274.1\_PET  
 MNKSILKLSFGTSVLLVSMNALSWTSPPTNPDPIDPTPCQDDCFT  
 RGNPPTPSSLEASTGPPSVAT  
 RSVASSVSGFGGGLHYPTNTTGTMGAIIVVPGFLLQESSIDFWGPKL  
 ASHGFFVITISANSFGDQPASR  
 ATQLGRALDYVINQSNQSNPISGMVDTRRLGVVWWSMGGGGALQL  
 ASGDRLSAAIPIAPWNQGGNRFQD  
 IETPTLVACENDVVASVNSHASPFFYNRIPSTTDKAYLEINGGSHFCAND  
 GGSIGGLLGGYGVSWMKRFI  
 DNDLRYDAFLCGPDHAAANRSVSEYRDTCTNY  
 >ASA57064.1\_PET  
 MMNVLTCKKLAGHIAIFFSLPSFAVPCSDCSNGFERGQVPRVDQLESS  
 RGPVSKTINVSRLARGFGGG  
 TIHYSTESGGQGGIIVVPGVYSLESGIKWWGPRLASWGFTVITIDNTI  
 YDQPSRASQLSAAIDYVID  
 KGNDRSSPIYGLVDPNRVGVIGWSMGGGSLKATDRKIDAVIPQAP  
 WYLGLSRFSSTPTMIIACQAD  
 VVAPVSVHASRFYNQIPGTTPKAYFEIALGSHFCANTGYPSEDILGRNG  
 VAWMKRFIDKDERYQFLCGQ  
 NFDSSLRVSEYRDNCYSY  
 >AKJ29164.1\_PET  
 MPPDCVLPRLAAALASATLVLPSAAAQTNPYQRGPDPTTRDLEDS  
 RGPFRYASTNVRSPSGYAGTI  
 YYPTDVSGSVGAVAVVPGYLARQSSIRWWGPRLASHGFVITLDRST  
 SDQPASRSQQMAALRQVVALS  
 ETRSSPIYGKVDPNRLAVMGWSMGGGGLISARDNPSLKAAPFAPW  
 HNTANFSGVQVPTLVACENDTV  
 APISRHASSFYNSFSSSLAKAYLEINNGSHTCANTGNSNQALIGKYGVA  
 WIKRFVNDNDTRYSPFLCGAPH  
 QADLRSSRLSEYRESCPY  
 >UUT36764.1\_PET  
 MFRTIKPNVRSLIAAGSLLLSAFAAAGGGGDDGGGCTSDCGFQR  
 GPDPTVSFLAASSGPYSVRTDNV  
 SSLVGGFGGGTVHYPTGTTGTMAAVVIPGFVSAESSIEWWGPKLAS  
 YGFVMTIDTNSGFDQPPSRATQ  
 INNALDYLLEENDSSSPYSGMIDPNRLGVIGWSMGGGGLRVAEAG  
 RIQAAIPLAPWDTSSLRFRNIET  
 PTLIFACESDVIAPVGSADPFYEAIPDSTDKAFFELNNGSHYCGNGGN  
 SYNNELGRLGVSWMKLHLDDQ  
 QRYNQFLCGPDHEDEYRISEYRGTCPY  
 >UUT36763.1\_PET  
 MFNQIGKKSALSMAAGSLMFSATALAIGGGGSGGNGGGGGGCEA  
 DCGYERGPDPVSLLEASTGPFV  
 RTSNVSSVRFGGGGTIHYPTNTTGTMAAVVIPGFVSPESIAWWG  
 KLASHGFVMTIGTNSGFDQPA  
 SRASQLNNDLYLIEQNGSSRSPINGMIDTDLRGVWWSMGGGGL  
 RVATEGRVSAIPLAPWDSSSSQF  
 RSIDTPTLIFACENDSTAPVRSHADPFYDAIPDSTAKAFVELDGGGHTCA  
 NGSSFGGGSYNDVLSRLGV  
 WMKHLHDKDQRYNQFVCGPNHESDRSISEYRGTCPY  
 >ANP21911.1\_PET  
 MIINRTLPNSLLMLAGALLSTSMATNPPVDEPTDPGDSYARGPDP  
 TVAFLAASSGPYSTRSRVSL  
 VSGFGGGTIHYPTGTTGTMAAVVIPGFVSAESSIDWWGPKLASHGFV  
 VMTIDTNTGFDQPPSRARQINN

ALDYLVQNSRRTPVNGMIDTDLRGVIGWSMGGGGTLRVASQGR  
 KAAIPLAPWDTTNNARSVQAPTLIF  
 ACQADIIAPVGVHASPFYNQLPNIDIEKAYVEISGGSHYANGGGLNND  
 VLSRLGVSWMKRFLDNDTRYSQ  
 FLCGNHTSDRRVSEYRGNCYP  
 >ANP21910.1\_PET  
 MKNTLIPKSLSTLFAASALMLSATVMAANPAPPQDPVEPGGFARGPD  
 PSVFLAADRGPYSVNTSRVSL  
 VSGFGGGTIHYPSGTTGTMAAVVIPGFVSAESSIEWWGPKLASHGFV  
 VMTIDTNTSFDQPPSRARQINS  
 ALDYLDQNTATRSVAVRGMIDTNRGLVWWSMGGGGTLRVATEGRIS  
 AAIPLAPWDTSSQLFRNVQAPTL  
 IFACESDIIAPVGSASPFYNRLPGDLNKAFVEIDGGNHYCANGAASFG  
 RYDSVLSRMGVSWMKLHLDDQ  
 ERYKQFLCGPNHTADNRSEYRGNCYP  
 >WP\_088276085.1\_PET  
 MPFNKKSVLALCGAGALLFSMSALANNPAPTDPGDSGGGSAYQRGP  
 DPSVFLAADRGPYSVRSRVSLL  
 VSGFGGGTIYPTGTTGTMGAVVIPGFVSAESSIDWWGPKLASYGFV  
 VMTIDTNTGFDQPPSRARQINN  
 ALDYLVSQNSRSSPVRGMIDTNRGLVIGWSMGGGGTLRVASEGRIK  
 AAIPLAPWDTTSSYASRSQAPTL  
 IFACESDVIAPVLQHASPFYNLSLSSIDKAFVEINGGSHYCGNGGSIYND  
 VLSRFVSWMKLHLDEDSRY  
 KQFLCGPNHTSDSQSDYRGNCYP  
 >2FX5\_A\_PET  
 APLPDTGAPFPFPAVANFDRSGPYTVSSQSEGPSRIYRPRDLGGQGV  
 HPVILWNGTGTGAGPSTYAGLLS  
 HWASHGFVAAAETSNAAGTGREMLACLDYLVRENDTPYGTYSGLNT  
 GRVTSGHSQGGGGSIMAGQDTR  
 VRTTAIPIQPYTLGLGHDSASQRRQGGPMLMSSGGGDTIAPFLNAQP  
 VYRRANVPVFWGERRYVSHFEPV  
 GSGGAYRGPSTAWFRFQLMDDQDARATFYGAQCSLCTSLLSVVERR  
 GL  
 >P19833.1\_PET  
 MFIMIKKSELAKAIIVTGALVFSIPTLAEVLTSETTVSSIKSEATVSSTKKAL  
 PATPDCIADSKITAVA  
 LSDTRDNGPFSIRTKRISRSQSAKFGGGGTHIYPTNASGCGLLGAIIVVP  
 GYVSYENSIKWWGPRLASWG  
 VVITINTNSIYDDPDSRAAQLNAALDNMIADDTVGSMDPKRLGAIGW  
 SMGGGGALKLATERSTVRAIMP  
 LAPHYDHSYGEVKTPTLVACEDDRIETKKYANAFYKNAIGPKMKVEV  
 NNGSHFCPSYRFNEILLSKPG  
 IAWMQRYINNDTRFDKFLCANENYSKSPRISAYDYKDCP  
 >WP\_003460012.1\_PET  
 MRAWWLSGALALMFWAQGAVAGTLLVVGDSISAAFGLSRQGWV  
 ALLEKRLSEEGFEHSVNVNASISGDT  
 AGGAARLSALLAEHKPELVIIELGGNDGLRGQPPAQLQQNLASMEQS  
 QQAGAKVLLLGKMLPPNYGVRY  
 TTAFAQVFTDLAEQKQVSLVPFFLEGVGGVPGMMQADGIHPAEAAQ  
 EILLDNVWPTLKPML  
 >WP\_085690612\_PET  
 MTEPLILQPVKPADACVIWLHGLGADRYDFLVAEALQESLLSTRFVLP  
 QAPTRPVINGGYAMPWYDI  
 KAMSPARAIDRDELEASADRIELIEEQRSSGIDASRIFLAGFSQGGAVVY  
 HTAFLKWWQGLGGVLLST  
 YAPTFSDELSASQQRIPVLSLHGQFDNVVQNSMGRATAYEYLKAHV  
 TVTWQEYPMHEVLPPEIRDIG  
 TWLSERLR  
 >A4W93\_05950\_PET  
 MFGKLPFARASLAVGALLSAAVAQTNPYQRGPDPTVSSLEATRGP  
 STSSFTVSRPSGYGAGTVYYPT  
 NAGGKVGAIIVVPGYARQSSINWWGPRLASHGFVITIDTNTSLDQ  
 PSSRSSQQMAALRQVSLAGTSS

SPIYNKVDARLGMVMSGGGSLISAKNNPSLRAAAPQAPWAQE  
SFSSVTVP TLIVSCENDSIAPNSS  
HSFPFYNQMTRNKKANLVINGGSHSCANSNGSDAGLIGKYGVAWMK  
RFMDDDDTRYSKFLCGAEHQADLSK  
RAVEAYKENCY  
>RLU00646.1\_PET  
MNTRELRIKDLRNLPTFLAAVFLQVFATPTPTPEPEPEPPGGCGDCY  
QRGPDPTVAALADRGPYSV  
RTINVSSWVSGFGGGTIHYVGTQGTMGAIVIPGYVSYENSIEWWG  
GRLASWGFVITIDTNSIYDQPD  
SRANQLSALDYVIAQSNSSRAIQGMVDPNRLGAIGWSMGGGGTLK  
LSTDRLKAAIPQAPWYSGFNPF  
DEITPTLIACQLDAVAPVAQHASPFIYNEIPNSTAKAFLEIRNGDHFCA  
NSGYPDEDILGKYGVAWMKR  
FIDDDRRYDAFLCGPNHEAEWDISEYRDTTCNY  
>RLT92980.1\_PET  
MGDCPATAICRSESPGAYSGNGPYGSRSYTLRSRFTPGGATVYYPANA  
EPPYAGMVFTPPYTGTQAMFAA  
WGPFFASHGFVLVMTDTSTLLDSVDQRAAQKQEVNLKSENTRSGS  
PLRGKLDARLGAIVGWSMGGGAT  
WINSAEYSLKGTAMSLAGHNLTAVIDIDSKGYNTRVPTLLFNGAQDLTY  
LGGGQSDGVYNNIPAGIPKVF  
YEVSSAGHFDWGSPTAANRSVASLALAFHKAYLDGDTRWLQYITRPS  
DVTWRTANIR  
>WP\_101893509.1\_PET  
MSQVPPTPTDDMGDCPSTAIACRGEAPGSGYNGPYGSRSYTLRSR  
QTPGGATVYYPNAEPPYSGLVF  
TPPYTGTQAMFRAWGPFASHGIVLVTMDTSTTVDTVDQASQQR  
VLDVLKQENTRSGSPLRGKLDTSR  
LGAVGWSMGGGATWINSAEYNGLKTAMSLAGHNMTAIDLDSKGN  
TRVPTLLFNGALDMLGGLGQSIG  
VYNAIPRGIPKVIYEVASAGHFDWGSPTAANRSVAGIALAFHKTFLDGD  
TRWVSYIKRPSDVATWRTE  
LPQ  
>ODU60407.1\_PET  
MRFRVAASLPAEYLAVDNVLEGTAQPPAGGSGYQKQPEPTAALLE  
AGTGPFATASVTLRSAAASGFGG  
GTIHYVQGVAGPFAAVAVVPGYLAESTIAWGWPRLASHGFVITMA  
TNNTLDLPASRAQLTAALNQLK  
TSLATPGHAFVLDPNRLGVVGSYGGGGTLNAQANPQLKAAMA  
LAPKTLQGDFTGTTVPTLVVGCQ  
ADTTAAPAFWAIPFYNKVSASTGKAYLEVRGGSHFCVTSSTSDADKAL  
GKYGVAWLKRFMDEDTRYAFP  
LCGAPRQADVAGNAISDYRDNCPY  
>WP\_06219544.1\_PET  
MSPSTLSTILLAACAALAPGLAQYQKGPDTASALERNGPFAIRST  
SVSRYSVSGFGGGRLLYPTAS  
GTYGAIASVPGFTGTSMTFWGERLASHGFVVLVIDITITLYDQPSRA  
RQLKAALDYLATQNGRSSPI  
YRKVDSRRAVAGHSMGGGSLAARDNPNYSKAAIPMAPWNTSSTA  
FRVTSVPTMIFGCQDDSIAPVFSH  
AIPFYNAINSTRKNYVEIRNDDHFCVMNGGGHDATLGKLGISWMKR  
FVDNDTRYSPFVCGAEYNRVSS  
YEVSRSYNCPY  
>G9BY57.1\_PET  
MDGVLWRVRTAALMAALLAALWALVWASPSVEAQSNPYQRGNP  
TRSALTADGPFVATYTVSRLSVSG  
FGGGVYYPTGSLTFGGIAMSPGYTADASSLAWLGRRLASHGFVVLVI  
NTNSRFDYPPDRASQLSAALN  
YLRTSSPSAVRARLDANRLAVAGHSMGGGGLRIAEQNPSLKAAPLPT  
PWHDTKFTNTSVPVLIVGAEAD  
TVAPVSHAIPIFYQNLPTSTPKVYVELDNASHFAPNSNNAISVYTISW  
MKLWVDNDTRYRQFLCNVNDP  
ALSDFRTNRRHCQ  
>GBD22443.1\_PET  
MQVVLGRVRSAGLLAALLAALWALVWASPSAEQSNPYQRGNPT  
RSALTTDGPFSVATYSVRLSVSG  
FGGGVYYPTGTTLTFGGIAMSPGYTADASSLAWLGRRLASHGFVVI  
NTNSRDLFPDRASQLSAALN  
YLRTSSPSAVRARLDANRLAVAGHSMGGGATLRRISEQIPTLKAGVPLPT  
WHTDKFTNTSVPVLIVGAEAD

TVAPVSHAIPIFYQNLPTSTPKVYVELDNASHFAPNSNNAISVYTISW  
MKLWVDNDTRYRQFLCNVNDP  
ALSDFRTNRRHCQ  
>Q6A014\_PET  
MAVMTPRRERSLLSRALQVTAATAALVTAVSLAAPAHAANPYERG  
PNPTDALLEASSGPFVSEENV  
RLSASGFGGGTIYYPRENNTYGAVAISSPGYTGTGEASIAWLGERIASHGF  
VVITIDTITLDQPSRAEQL  
NAALNHMINRASSTVRSRIDSSRLAVMGHSMGGGGTLRLASQRPDLK  
AAIPLTPWHLNKNWSSVTPTLI  
IGADLDTIAPVATHAKPFYNSLPSISKAYLELDGATHFAPNIPNKIIGKYS  
VAWLKRFVDNDTRYQFL  
CPGPRDGLFGEVEEYRSTCPF  
>Q6A013\_PET  
MAVMTPRRERSLLSRALRFTAATAALVTAVSLAAPAHAANPYERGP  
NPTDALLEARSFPFVSEERAS  
RFGADGFGGGTIYYPRENNTYGAVAISSPGYTGTQASVAVLWKRIASHG  
FVITIDTNTLDQPSRARQL  
NAALDYMINDASSAVRSRIDSSRLAVMGHSMGGGSLRLASQRPDLK  
AAIPLTPWHLNKNWSSVTPTLI  
IGADLDTIAPVLTARHPFYNSLPTSISKAYLELDGATHFAPNIPNKIIGKYS  
VAWLKRFVDNDTRYQFL  
CPGPRDGLFGEVEEYRSTCPF  
>ADV92528.1\_PET  
MANPYERGNPTDALLEARSFPFVSEENVSRLSASGFGGGTIYYPREN  
NTYGAVAISSPGYTGTGEASIAW  
LGERIASHGFVITIDTITLDQPSRAEQLNAALNHMINRASSTVRSRI  
DSSRLAVMGHSMGGGSLRL  
ASQRPDLKAAIPLTPWHLNKNWSSVTPTLIIGADLDTIAPVLTARHPF  
YNSLPTSISKAYLELDGATHF  
APNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYQFLCPGPRDGLFGEVEEYRST  
CPF  
>Q47R6\_PET  
MAVMTPRRERSLLSRALQVTAATAALVTAVSLAAPAHAANPYERG  
PNPTDALLEASSGPFVSEENV  
RLSASGFGGGTIYYPRENNTYGAVAISSPGYTGTGEASIAWLGERIASHGF  
VVITIDTITLDQPSRAEQL  
NAALNHMINRASSTVRSRIDSSRLAVMGHSMGGGGTLRLASQRPDLK  
AAIPLTPWHLNKNWSSVTPTLI  
IGADLDTIAPVATHAKPFYNSLPSISKAYLELDGATHFAPNIPNKIIGKYS  
VAWLKRFVDNDTRYQFL  
CPGPRDGLFGEVEEYRSTCPF  
>Q47R7\_PET  
MPPHAARPGPAQNRRGRAMAVITPRRERSLLSRALRFTAATAALVT  
AVSLAAPAHAANPYERGNPTD  
ALLEARSFPFVSEERASRFGADGFGGGTIYYPRENNTYGAVAISSPGYT  
GTQASVAVLGERIASHGFVVI  
TIDTNTLDQPSRARQLNAALDYMINDASSAVRSRIDSSRLAVMGHS  
MGGGGTLRLASQRPDLKAAIPL  
TPWHLNKNWSSVTPTLIIGADLDTIAPVLTARHPFYNSLPTSISKAYLE  
LDGATHFAPNIPNKIIGKYS  
VAWLKRFVDNDTRYQFLCPGPRDGLFGEVEEYRSTCPF  
>CBY05530\_PET  
ANPYERGNPTDALLEARSFPFVSEENVSRLSASGFGGGTIYYPREN  
TYGAVAISSPGYTGTGEASIAW  
GERIASHGFVITIDTITLDQPSRAEQLNAALNHMINRASSTVRSRID  
SSRLAVMGHSMGGGSLRLA  
SQRPDLKAAIPLTPWHLNKNWSSVTPTLIIGADLDTIAPVATHAKPFY  
NSLPSISKAYLELDGATHFA  
PNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYQFLCPGPRDGLFGEVEEYRSTC  
PF  
>AET05798.1\_PET  
MPPHAARPGPAQNRRGRAMAVITPRRERSLLSRALRFTAATAALVT  
AVSLAAPAHAANPYERGNPTD  
ALLEARSFPFVSEERASRFGADGFGGGTIYYPRENNTYGAVAISSPGYT  
GTQASVAVLGERIASHGFVVI  
TIDTNTLDQPSRARQLNAALDYMINDASSAVRSRIDSSRLAVMGHS  
MGGGGTLRLASQRPDLKAAIPL  
TPWHLNKNWSSVTPTLIIGADLDTIAPVLTARHPFYNSLPTSISKAYLE  
LDGATHFAPNIPNKIIGKYS  
VAWLKRFVDNDTRYQFLCPGPRDGLFGEVEEYRSTCPF

>AET05799.1\_PET  
MAVMTPRRERSLLSRALQVTAATAALVAVSLAAPAHAANPYERG  
PNPTDALLEASSGPFVSEENV  
RLSASGFGGGTIYPRENTYGAVAISPQYGTGEASIAWLGRIASHGF  
VVITIDITITLDQPDRAEQ  
NAALNHMINRASSTVRSRIDSSRLAVMGHSMGGGGTLRLASQRDLK  
AAIPLTPWHLNKNWSSVTVPTLI  
IGADLDTIAPVATHAKPFYNSLSPSSISKAYLELDGATHFAPNIPNKIIGKYS  
VAWLKRFVDNDTRYQFL  
CPGPRDGLFGEVEEYRSTCPF  
>WP\_104613137.1\_PET  
MAVMTPRRERSLLSRALQVTAATAALVAVSLAAPAHAANPYERG  
PNPTDALLEASSGPFVSEENV  
RLSASGFGGGTIYPRENTYGAVAISPQYGTGEASIAWLGRIASHGF  
VVITIDITITLDQPDRAEQ  
NAALNHMINRASSTVRSRIDSSRLAVMGHSMGGGGTLRLASQRDLK  
AAIPLTPWHLNKNWSSVTVPTLI  
IGADLDTIAPVTHARPFYNSLSPSSISKAYLELDGATHFAPNIPNKIIGKYS  
VAWLKRFVDNDTRYQFL  
CPGPRDGLFGEVEEYRSTCPF  
>ADM47605.1\_PET  
AANPYERGNPTDALLEASSGPFVSEENVRLSASGFGGGTIYYPRES  
NTYGAVAISPQYGTGEASIAW  
LGERIASHGFVVITIDITITLDQPDRAEQNAALNHMINRASSTVRSRI  
DSSRLAVMGHSMGGGGTLRL  
ASQRDLKAAIPLTPWHLNKNWSSVTVPTLIIGADLDTIAPVATHAKPF  
YNSLSPSSISKAYLELDGATHF  
APNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYQFLCPGPRDGLFGEVEEYRST  
CPF  
>ADV92526.1\_PET  
MANPYERGNPTDALLEASSGPFVSEENVRLSASGFGGGTIYYPREN  
NTYGAVAISPQYGTGEASIAW  
LGERIASHGFVVITIDITITLDQPDRAEQNAALNHMINRASSTVRSRI  
DSSRLAVMGHSMGGGGTLRL  
ASQRDLKAAIPLTPWHLNKNWSSVTVPTLIIGADLDTIAPVATHAKPF  
YNSLSPSSISKAYLELDGATHF  
APNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYQFLCPGPRDGLFGEVEEYRST  
CPF  
>ADV92527.1\_PET  
MANPYERGNPTDALLEASSGPFVSEERASRFADGFGGGTIYYPRE  
NNTYGAVAISPQYGTQASVAW  
LGERIASHGFVVITIDITITLDQPDRAEQNAALDYMINDASSAVRSRI  
DSSRLAVMGHSMGGGGTLRL  
ASQRDLKAAIPLTPWHLNKNWSSVTVPTLIIGADLDTIAPVTHARPF  
YNSLSPSSISKAYLELDGATHF  
APNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYQFLCPGPRDGLFGEVEEYRST  
CPF  
>ACY96861.1\_PET  
MSLRKSFGLLSATAALVAGLVAAPPAQAAANPYQRGPDPTELLRAAR  
GPFVASEQSVRSLSVSGFGGR  
IYYPITTSQGTGFAIASPQYGTASWSSLAWLGPRLASHGFVIGIETNRL  
DQPDNRGRQLLAALDYLTQ  
RSSVRNRVDASRLAVAGHSMGGGGTLEAAKSRSLKAAIPIAPWNLK  
TWPEVRTPTLIIGGELDISAPV  
ATHSIPFYNSLTNAREKAYLELNASHFFPQFSNDTMAKFMISWMMKRF  
IDDDTRYDQFLCPPRAIGDIS  
DYRDTCPHT  
>ACY95991.1\_PET  
MKRTLKRALLPAAALVAASPAQAAANPYQRGNPTEASITA  
ARGPFNTAEITVRSLSVSGFGG  
GKIYYPITTSQGTGFAIASPQYGTAYWSSLEWLGHRLASQGFVIGIETN  
TLDQPDNRGRQLLAALDYLTQ  
TQRSAVRDRVDASRLAVAGHSMGGGGTLEAAKARTSLKAAIPIAPWNLK  
LDKTWPEVRTPTLIIGGELDISAPV  
PVATHSIPFYNSLNAPEKAYLELDNASHFFPQFSNDTMAKFMISWMMKRF  
RFIDDDTRYDQFLCPPPTSTGLL  
SDFSDARFTCPM  
>AFA45122.1\_PET  
MANPYERGNPTNSSIEALRGPFRVDEERVSRQLQARGFGGGTIYYP  
NTFTGVAISPQYGTQSSISW

LGERLASHGFVVMITDNTTLDQPDRAEQNAALDYMVEDSSYSVRN  
RIDSSRLAAMGHSMGGGGTLRL  
AERRPDLQAAIPLTPWHTDKTWGSRVPTLIIGAENDTIASVRSRSHSEPF  
YNSLPGSLDKAYLELDGASHF  
APNLSNTTIKAYSISWLRKRFVDDTRYQFLCPGPSTGWGSDVEEYRST  
CPF  
>BAI99230.2\_PET  
MSVTTPRREASLLSRAVAVAAAAATVALAAPAQAANPYERGNPTE  
SMLEARSQPFVSEERASRLGAD  
GFGGGTIYPRENTYGAIASPQYGTQSSIAWLGRIASHGFVVIAD  
TNTTLDQPDRAEQNAALD  
YMLTDASSVVRNRIDASRLAVMGHSMGGGGTLRLASQRDLKAAIPLT  
PWHLNKSWRDITVPTLIIGADL  
DTIAPVSSHSEPFYNSIPSSTDKAYLELNATHFAPNITNKTIGMYSVAW  
LKRFDVDEDTRYQFLCPGPR  
TGLLSDVDEYRSTCPF  
>ADV92525.1\_PET  
MANPYERGNPTDALLEASSGPFVSEENVRLSASGFGGGTIYYPREN  
NTYGAVAISPQYGTGEASIAW  
LGGRIASHGFVVITIDITITLDQPDRAEQNAALNHMINRASSTVRSRI  
DSSRLAVMGHSMGGGGTLPRL  
ASQRDLKAAIPLTPWHLNKNRSSVTVPTLIIGADLDTIAPVATHAKPFY  
NSLSPSSISKAYLELDGATHF  
APNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYQFLCPGPRDGLFGEVEEYRST  
CPF  
>BAK48590.1\_PET  
MSVTTPRREASLLSRALRATAAAATVAVATVALAAPAQAANPYERGNP  
PTESMLEARSQPFVSEERASR  
FGADGFGGGTIYPRENTYGAIASPQYGTQSSIAWLGRIASHGFV  
VIAIDTNTTLDQPDRAEQNAALD  
AALDYMLTDASSAVRNRIDASRLAVMGHSMGGGGTLRLASQRDLK  
AAIPLTPWHLNKNRSDITVPTLI  
GAEYDTIASVTLHSPFYNSIPSSTDKAYLELDGASHFAPNITNKTIGMY  
SVAWLKRFDVDEDTRYQFLC  
PGPRTGLLSDVDEYRSTCPF  
>BAO42836.1\_PET  
MRIRROAGTGARASMARAIQVMTTALAVLVGAVGGVAGAEVSTAQD  
NPYERGPDPTEDESIAIRGPFVSA  
TERVSSAFSGFGGGTIYYPREDEGTFGAVAVAPGFTASQGSMSWYGE  
RVASQGFVITIDITNRLDQPG  
QGRQLLAALDYLVERSDRKVRERLDPNRLAVMGHSMGGGGTLEAT  
VMRPSLKASIPPLTPWNLDKTWGQV  
QVPTFIIGAELDTIASVRTHAKPFYELSPSSLPKAYMELDGATHFAPNIP  
NTTIKAYSISWLRKRFVDED  
RYSQFLCPNPDRDRAIEYRSTCPY  
>EGD44994.1\_PET  
MDEGACSVLRSLSRIAATAAVLPLFLGLVAPAEASPYERGPDPTE  
SVLDNGTFLSSTSVSSLVG  
FGGGTIYPTSTTQGTGFGVVLAPGYTASSSSYSVARRVASHGFVVF  
DTNSRYDQPDRAEQNAALD  
SYLKNASSTVASRLDETRIAVSGHSMGGGGTLAAANQDSSIKAAVAL  
QPWHTDKTWPGIQTMIIGAE  
NDSVAVPASHSIPFYTSMTGAREKAYGEINNGDHFANTDDWQGR  
FVTWLRKRYVDDTRYQFLCPAP  
SSIYLSYRNTCPD  
>WP\_078759821.1\_PET  
MLTHSISPEETDGGRRTPLSRMSRLAARVGVTLAAGLTAGVTAPAH  
ASNPYERGPAPTESSVAVRGY  
FDTDTDTVSSLVSGFGGGTIYPTDTSEGTFGGVVIAPGYTASQSSMA  
WMGHRIASQGFVVTIDITRY  
DQPDNRGRQIEAALDYLVEDSDVADRVDGNRLAVMGHSMGGGGTL  
AAENRPELRAAIPLTPWHLQKNWS  
DVEVPTMIIGAENDTVASVRTHSIPFYSLDEDLERAYLELDGASHFAPN  
ISNTVIKAYSISWLRKRFVDE  
DERYEQFLCPPDPDTGLFSDYRDSCHPT  
>WP\_093412886.1\_PET  
MELKRSTGSLRLLVASAAVFLLAGNATLAQAAEPADVHGPDPTEESI  
TAPRGPFVEDEESVRSVSG  
FGGGTIYPTDTTDLFSAVSIQPGFTGTQETMAWYGPRLASQGFVVF  
TIDITITLDQPDRAEQNAALD



DYLVNDSVDKIIDPARLGVMGHSMGGGGSLKAALDNPALKAAIPLTP  
WHHTKDFSGVQTPTLIIAQND  
TVAPVSOHAKPFYESLPDDPGKAYLELAGASHLAPNTDNTTIKAFSIAW  
LKRFLDDDDTRYDQFLCPPPEN  
DDSDYQSTCPY  
>UNZ22463.1\_PET  
MKRRLIAYSIAALASATAVALPTGVASAAPCSVDVVSFARGTGELPGL  
GITGTPFVNSVKSQLSDRSVS  
TYAVNYAADFTQASAGPGRDLVAHLNSVAASCPSTKFIGGYSQGAT  
VVTNAVGLRTPSSFTGAVIPAA  
IADRIEAVVVFNGPFLTGRIETASSTYGSRTNSFCNFGDPVCQIGGF  
NTFAHLTYGTNGSTTQASFA  
AAQVRS  
>QEX94755.1\_PET  
MAACTDIDVVSARGTFEPGLGFIGVDPVYAALQKVKVAGKLSYKVN  
YPADLSPTSAAQGNADLVNHVR  
SQAASCPNQRFVLVGYSQGANVVDNSIGISSAGAVVGSPIVATLPAALE  
PRVSAVLLFGNPIRAIGKSVT  
GTYQSRITDFCAAGDPVCEGDDVGAHLGYRANADAAAFAATKI  
>ADH43200.1\_PET  
MTHQIVTTQYGVKGTTEENVHVKWGIPIYAKPPVQWRFAKPEPPE  
VWEDVLDATAYGICPQPSDLLSL  
SYTELPRQSEDLVYVNFAPDTPSQNLPMVMVWIHGGAFYLGAGSEPLY  
DGSKLAAQGEVIVVTLNRYLGP  
FGFLHSSFNEAYSNDLGLLQAAALKWVRENISAFGGDPDNTVTFGE  
SAGGMSIAALLAMPAAKGLFQK  
AIMESGASRTMTKEQAASTSAFLQVLGINEGQLDKLHTVSAEDSLKA  
ADQLRIAEKENIFQLFFQPALD  
PKTLPEEPEKAIEGAASGIPLLIGTTREDEGYLFFTPDSVHSQETLDAAL  
EYLLGKPLAEKAADLYPRS  
LESQIHMMTDLFWRPVAVAYASAQSHYAPVWMYRFDWHPKPPYIN  
KAFHALELPFVFNLDGLERMAKAE  
ITDEVKQLSHTIQSAWITFAKTGNPSTEAVNWPAYHEETRETLILDSEITI  
ENDPESEKQKLFPSKGE  
>7NEI\_A\_PET  
MANPYERGPDPTESSIEAVRGPFAVAQTTSRLQADGFGGGTIYYPTD  
TSQGTGFAVAISPGFTAGQESI  
AWLGPRIASQGFVITIDITRLDQPDSDRGRQLQAALDHLRTNSVVRN  
RIDPNRMAMVGMHSMGGGGALSAA  
AANNTSLEAAIPLQGWHTRKNWSSVRTPTLVVGAQLDITIAPVSSHSEA  
FYNSLPSDLKAYMELRGASHL  
VSNTPDTTAKYSIAWLKRFVDDDLRYEQFLCPAPDDFAISEYRSTCPFL  
EHHHHHH  
>7CUV\_A\_PET  
ANPYERGPDPTESSIEAVRGPFAVAQTTSRLQADGFGGGTIYYPTDTS  
QGTGFAVAISPGFTAGQESIA  
WLGPRIASQGFVITIDITRLDQPDSDRGRQLQAALDHLRTNSVVRNRI  
DPNRMAMVGMHSMGGGGALSAA  
ANNTSLEAAIPLQGWHTRKNWSSVRTPTLVVGAQLDITIAPVSSHSEAF  
YNSLPSDLKAYMELRGASHLV  
SNTPDTTAKYSIAWLKRFVDDDLRYEQFLCPAPDDFAISEYRSTCPF  
>WP\_111881932\_PET  
MKKIYAVALLFATSAPNIIFAQCGDVITSLTNP GPYEVATLTEADGLR  
NGPDYQGATVYPTNATPP  
FASIAIVPGFTALPSSVEEWGPFYASHGIVTIIIGTNSLFDPEERAVAILD  
ALETMRQENTRSSPLEN  
QLDVKFAVSGWSMGGGGAQRAAVLDNTIKGVVALCPWLPNASLN  
HDSPLIFSGENDPTAPPAQHADLH  
YAATPNTTNKLLFEIENGNSHVANTPNGNGAVGKIALSWLKLYVDEN  
DCYCPLLTESLLVDPAAASKVL  
SSFECELLSVPDNSFAISVYVNPHTDFVNIINSTNPVHFEVYSALGQRLLS  
GELTQSEKQIDFSNFAKGLY  
YVRLGNETVKIVRN  
>WP\_039353427\_PET  
MRKLYLFLFTLISPISISIFHAQCTGATVESLTNPGPYTVATLSEADGVR  
NGPKYAGSTIYYPTNATPP  
YASIAIVPGFTAAPSSVQEWGPFYASHGIVAVIIIGTNSLYDQPEARALALL  
DALETIKQENGRATSPLIG

KLDVTKLAVSGWSMGGGGAQRAAVLDNTISAVVALCPYLTPSQLNHT  
VPVLIFSQQSDPTAPPSQHNVH  
YNTTPGTTNKLLEVKNGNSHVANSPTGGGGAVGKLLALSWLKIYLEKN  
DCYCSVLATAIVNSTTVSSKIS  
QSYQCNNALGVVDSKTRFNLYPNPTKDFVQVNVREMASYQLSSSTGQ  
IVLKQIVTSSKNQIDLKSLPAGV  
YYLQINGETIKVIKKQ  
>7QJM\_A\_PET  
MVDITGNGMAATAPTDERIVDKPLPQPQIRSGNVRAMPAARKLAQE  
HGIDLSTLTGSGPGGVIVKEDVER  
AITARAVPVSPQRVNFYSAGYRLDGLLYTPRHLPAGERRRPGVLLVGY  
TYLKTMMVMPDIAKVLNAAGYV  
ALVFDYRFGFGESEGRRLIPLEQVADARAALFLAEQSMVDPDLRAVI  
GISLGGAAHAIITTAALDQVRVA  
VVALEPPGHGARWLRSLRRHWWRQFLSRLAEDRRQRVLSGGSTMV  
DPLEIVLPDPESQAFDQVAEFP  
QMKVTLPLESAEALIEYVEDLAGRIAPRLLIIHSDADQLVPVAEAQAIA  
ERAGSSAQLEIIPGMSHFN  
WVMGSPGFTRVTSIVKFLRNTLPVSADNLEHHHHHH  
>AKZ20828.1\_PET  
MAEPAQGTQKVESSTTKKEVKDAEETIKIPTLEDIDNIDSAAEVEKSEE  
DINKMPLPKFPVEFPEVNR  
SIIGNNYIVLVHGFMGFRDELGYKYVGGVVDLQEKLNASGHETY  
TATVGPVSSNWDRACELYAYIV  
GGTVDYGEAHAKKFKHNRVGRTPYGIYKNISNENKIHLIGHSMGGQTI  
RTLTLQLESEGSEEEINCGQENI  
SPLFEGGKHWHISVSTISTPNDDGTTLSLMPAKDLISYTFVGLTITGKN  
KLFSSYDLKLDQWGLKKQN  
GESQRDIERVLDNSIWNSTKDIATYDLSTEGAQELNTWVKAQPDVYV  
FSWTTQATKESILTGHVSAQIG  
PMNPIFYPTANLMGRYSRNQKDLPIIDKKWFPNDGVVNCISQDGPKL  
GSNDVIEQYNGGKIGQWNAMPR  
IINTDHMDIVGTFGNVKDWYMDYASFLSNLSR  
>RLI42440.1\_PET  
MIKPVTFMSEGEQIGVLHVPDDLRGDKRAPAIAMFHGFTGNKSEHR  
LFVHVARSCLNDGFFVLRFDJR  
GSGSDGFEFEDMTVPGEVCDASRSIDFLSELNFVDSERIGVLGSMGG  
RVAAILASKDRRIKRVILYSAA  
LTLRKRKFLGLEKESIRRLMGEAVHVGNWYLLKGGFFETVDSIVPLD  
VLDRIRVPVLIHIGSDSVIP  
LDGALKGYEIIIRDNDKNELIYVIRGGDHVFTRRREHTIEVIERTLDWLRSL  
NL  
>LIPB\_PSEA2\_PET  
MKLLSLTGVAGVLATCAATPLVKRPLSGSDPAFSPQKSVLDAGLTCQ  
GASPPSSVSKPILLVPGTGTTP  
QSFDSNWVPLSTQLGYTPCWISPPFMLNDTQVNTYEMVNAITALYA  
GSGNNKLPVLTWSQGGGLVAQWGL  
TFPFSIRSKVDRLMAFAPDYKGTVLGAPLDALAVSAPSVWQQTGSAL  
TTALRNAGGLTQIVPTTNLYSA  
TDEIVQPQVSNPLDSSYLFGNKNVQAQAVCGPLFVIDHAGSLTSQFSY  
VVGSRALRSTTGQARSADYGI  
TDCNPLPANDLTPEQKVAALAPAAAIAVAGPKQCNCEPDLMPYAR  
PFAVGKRTCSGIVTP  
>AAA33335.1\_PET  
MKFFALTLLAATASALPTSNAQELEARQLGRTRRDDLINGNSASCAD  
VIFYARGSTETGNLGLTGPS  
IASNLESFAFGKDGWVIQGVGGAYAATLGDNALPRGTSSAAIREMLGLF  
QQANTKCPDATLIAGGYSQGAA  
LAAASIEDLDSAIRDKIAGTVLFGYTKNLQNRGRIPNYPADRTKVCNTG  
DLVCTGSLIVAAPHLAYGPD  
ARGPAPEFLIEKVRVAVRGA  
>4OYY\_A\_PET  
QLGAIENGLESANACPDAILFARGSTEPGNMIGITVGPALANGLESH  
IRNIWIQGVGGPYDAALATNF  
LPRGTSQANIDEGRKLFALANQKCPNTPVVAGGYSQGAALIAAAVSEL  
SGAVKEQVKGVLFYGTQNLQN  
RGGIYNPRERTKVCNVGDAVCTGLIITPAHLSYTIARGEARFLRD  
RIRA

## Annexe 2 : Liste des séquences protéiques d'intérêt potentiellement impliquées dans la dégradation du PA

>P13397.2\_Paoligo

MSKVDLWQDATAQAEIVRSGEISRTELEATIAHVQAVNPEINAVIPL  
FEKARRESELASGPFAGVPYL  
LKDLTVVSQGDINTSSIKGMKESGYRADHDAYFVQRMRAAGFVLLGK  
VNTPEMGTVTEPEAWGATRNP  
WNLGRSVGGSSGGSGAAVAAALSPVAHGNDAAAGSVRIPASVCGVVG  
LKPTRGRISPGPLVTDSDNVAGAA  
HEGLFARSVRDIAALLDVVSGHRPGDTFCAPTASRPYAQGISENPGSLR  
VGVLTNHPVGFALDPECAAA  
ARGAAAALAALGHVDNDAYPEALGDRSFLKDYLTICDVAIAREIERNGE  
LIGRPLTEDDVEWTSWEMVVKR  
ADQVTGRAFAACVDELRYAGKVERVWWEAGWDLILPTVTRQTPEIG  
ELMLAKGTDLEGRHTALISGSLR  
MLAFTVPFNVSGQPAISLPIGMSDGMPIGVQIVAAYGREDLLLQVAA  
QLEGALPWVARRPQLLNPSRKI  
PAA

>P13398.2\_Paoligo

MSKVDLWQDATAQAEIVRSGEISRTELEATIAHVQAVNPEINAVIPL  
FEKARRESELASGPFAGVPYL  
LKDLTVVSQGDINTSSIKGMKESGYRADHDAYFVQRMRAAGFVLLGK  
NTPEMGNQVTEPEAWGATRNP  
WNLGRSVGGSSGGSGAAVAAALSPVAHGNDAAAGSVRIPASVCGVVG  
LKPTRGRISPGPLVTDSDNVAGAA  
HEGLFARSVRDIAALLDVVSGHRPGDTFCAPTASRPYAQGISENPGSLR  
VGVLTNHPVGFALDPECAAA  
ARGAAAALAALGHVDNDAYPEALGDRSFLKDYSTICDVAIAREIERNGE  
LIGRPLTEDDVEWTSWEMVVKR  
ADQVTGRAFAACVDELRYAGKVERVWWEAGWDLILPTVTRQTPEIG  
ELMLAKGTDLEGRQSAFISGSLQ  
MLAFTVPFNVSGQPAISLPIGMSDGMPIGVQIVAAYGREDLLLQVAA  
QLEGALPWVARRPQLLNPSRKI  
PAA

>P07061.1\_Paoligo

MNARSTGQHPARYPGAAGEPTLDSWQEAPHNRWAFARLGELLPTA  
AVSRRDPATPAEPVVRDLALATRL  
PDLEQRLEETCTDAFLVLRGSEVLAEYRAGFAPDDRHLMSVSKSLCG  
TVVVALIDEGRIDPAQPVTEY  
VPELAGSVYDGPVQLVLDMQISIDYNEDYVDPASEVQTHDRSAGWR  
TRRDGDPADTYEFLTLRGDGGT  
GEFYCSANTDVLAWIVERVTLGRYVEALSTYLWAKLDADRDATITVD  
QTGFGFANGGVSTARDLARVG  
RMMLDGGVAPGGRVVSQGWVESVLAGGSREAMTDEGFTSAFPEGS  
YTRQWWCTGNERGNVSGIGIHGQNL  
WLDPRTDSVIVKLSSWPDPTRHWHGLQSGILLDVSRLDAV  
>Q79F77.1\_Paoligo  
MNTPPVHALTDIDGGIAVDPAPRLAGPPVFGGPGNDAFDLAPVRSTG  
REMLRFDGPFVSGIAAHYEEGPT

GATVIHIPAGARTAVDARGGAVGLSSGGYDFNHAICLAGGAGYGLEAG  
AGVSDALLERLEHRTGFELQLV  
SSAVIYDFSARSTAVYDPKALGRAALEFAVPGFEPQGRAGAGMSASAG  
KVDWDRTEITGQGAFFRRLGDV  
RILAVVVPNPVGVVDRAGTVVRGNDAQTGVRHRPVDYQEAFAEQ  
VPPVTEAGNTTISAIVTNVRMSP  
VELNQFAKQVHSSMHRGIQPFHTDMDGDTLFAVTTDEIDLPTTPGSSR  
GRLSVNATALGAIASEVMWDAV  
LEAGK

>Q1EPR5.2\_Paoligo

MNTPPVHALTDIDGGIAVDPAPRLAGPPVFGGPGNDAFDLAPVRSTG  
REMLRFDGPFVSGIAAHYEEGPT  
GATVIHIPAGARTAVDARGGAVGLSSGGYDFNHAICLAGGAGYGLEAGA  
GVSGALLERLEYRTGFAEALV  
SSAVIYDFSARSTAVYDPKALGRAALEFAVPGFEPQGRAGAGMSASAG  
KVDWDRTEITGQGAFFRRLGDV  
RILAVVVPNPVGVIMDRAGTVVRGNDAQTGVRHRPVDYQEAFAEQ  
VPPVTEAGNTTISAIVTNVRMSP  
VELNQFAKQVHSSMHRGIQPFHTDMDGDTLFAVTTDEIDLPTTPGSSR  
GRLSVNATALGAIASEVMWDAV  
LEAGK

>Q1EPR4.1\_Paoligo

MNTPPVHALTDIDGGIAVDPAPRLAGPPVFGGPGNAAFDLVPVRSTG  
REMLRFDGPFVSGIAAHYEEGPT  
GATVIHIPAGARTAVDARGGAVGLSSGGYDFNHAICLAGGAGYGLEAGA  
GVSGALLERLEYRTGFAEALV  
SSAVIYDFSARSTAVYDPKALGRAALEFAVPGFEPQGRAGAGMSASAG  
KVDWDRTEITGQGAFFRRLGDV  
RILAVVVPNPVGVIMDRAGTVVRGNDAQTGVRHRPVDYQEAFAEQ  
LPPVTEAGNTTISAIVTNVRMSP  
VELNQFAKQVHSSMHRGIQPFHTDMDGDTLFAVTTDEIDLPTTPGSSR  
GRLSVNATALGAIASEVMWDAV  
LEAAK

>WP\_011209364.1\_Paoligo

MDVAEYAAHDATGLAELIREGQVSAAEVWTAATAALDAVEPELAAVA  
GERFDKPLDYDESGPFAGVPFAL  
KDLIAHAGGVPSRSGSRLFGAGVAHPEDTHLVARFRRAIGAITRSP  
EFGFNATTEAIAYGGPSRNPW  
ATDRSPGGSSGASALVASGALPMAHANDGGGSIRIPAAACGAVGLK  
PSRGRTPGPDFADPLLGLGIEF  
AVTRTVRDCARLLDAVHGAEPGDYLLPGPVSRYAEHAAAGSRPLRIA  
VTTTPMDAGRAVDPECVAAVNR  
VAERLAELGHVVEEAPELDVAAFDANKLDWCSFLADAVLGASAQL  
GVQPSREYLEATTLACVEYGKTL  
SAFDIFTADRVFNQTTTRAVAGFLTRYDVLLTPTTAPPIPLGHLDAV  
LSAREWYDRIFDYGSFTALF  
NVTGMPAISLPLAESTAGLPIGIQFAGRYGDEATLLALAGDLERAMPW  
ADRRPAVHVGR

### Annexe 3 : Liste des séquences protéiques d'intérêt potentiellement impliquées dans la dégradation du PLA

>ABY53108.1\_PLA  
MGLAIAAAAVFSLPGVATATEPTGGVQPNIVGGGNATQVYSFMVVSQ  
QSSSGGHQCGGLISSTWVVTAKH  
CGTPYQVRVGTNRTSGTVARVAQRIAHPSADLALLRLSTAVPQAPV  
TIADASGAVGTATRIIGWGQTC  
APQGGCGAPITLQELNLSIVSDSRCLGISGASEICTNPNNGNSGACYGD  
SGGPQIKQVNGVWQLIGATSR  
AGNNSSTCATGSPSYVDVYFRSWIRTNTGV  
>ABY67151.1\_PLA  
YDVRGGDAYYINNSPRCSIGFSVNGGFLTAGHCGPGTGTGSNRVAMG  
SFARASFPNDYGHVVRVNSNWVP  
RGIINNGTRVSGSSEASTGASICKSGSTTGWTCGTGAKNQTVRYAEG  
TVYGMTATNARSQAGDSGGSFI  
AGNQAQGMLSGGNSTVYFFVPRPALSATGTSVLVG  
>BAC67195.1\_PLA  
MRKLKLLLMVCMVMFIFLPLGGMQSKASAATERTPIVFVHGLTGSD  
SNFALIERYLREGWSSDELFA  
IDLPSKAGNQLLNSAAISRFDVLRQTGHSKVHIVAHSMGGANSLYI  
LNRGGIDKVDKLITLGGANRL  
TTSRAPDGIIRVTSIYSTSDTIVSPALSRDLGANNISVNLVTHIGLLYSRV  
NALIKAALIE  
>Q75UA4\_PLA  
MKFGKVVLLAALAVVGLGGPAAADSTPQAQPSIIGGSNATSQGPW  
AARLFVNGRQNTATIIAPQYIL  
TAKHCVSSSGTYTFRIGSLDQSGTGMATGSTITRYPGSADLAIVRLTTS  
VNATYSPLGSDVSVGQNV  
SVYWGATSQCGSEINCQSRYLKQVATVRVNSISCSYDTGGVAVCANRV  
NGITAGGDSGGPMFASGRQVGV  
ASTSDRVNNTAYTNITRYRSWISQVAGV  
>BAA76305.1\_PLA  
MNSRSLTKAIRFPTLALAGFSVLGACGGSDNDSNNQGAPAVAITVA  
GQVQAVDRDLGMRRYFGIPFAA  
PPVGNLRWMPAPPQSWAAPLAKTQSNAPCMQTGATDPLRLPNGT  
EDCLYLDVHAPATGEGFPFVMVWIH  
GGAFSIGGTITYADPSPVSKGVIVVNIAYRMGAMGFLGHPSLRAADG  
TVGNYGIMDQQAALRWVQDNIA  
AFGGDKSNVTIFGESAGGFSVMTHLASPLSKGLFAKAIQVSGGYGDFR  
QLTQAQLEAQSTSIVNSALAAA  
GVSCPTVDAACLRLSAELVNNQLATAFTTANWSPVPSVDGKVLPKSI  
KATFVAGENNKVPLVNGSNQDE  
WSYFVASRELVAGPLTAAQYPSYLQTSGLPLPPLATVYPLTDYGTNTAQ  
QPSLAATAAGTDMHFSCPALN  
LSKRVLQATPIFMYEFRDRTAIPSIGRNTISFNQAGHTYELQYLFNLR  
DLETAEHRDLQASMARYWTN  
FARTSNPNNGDPVATSWPAFTGPTKVLGLDVAAGGIRELATFETDHK  
CNTAWTSLTF  
>Q0VLQ1\_PLA  
MQSGTVASNGIELFYESRGPENGEPMVFMGLSAQMVFWPDTLLDA  
LAAKGYRVIRFDNRDVGKSTQIRK  
PIKQGPVSAILRRIIQLPVESPYTLHDMVADTVGLLDALNIEAHFVGAS  
MGGMISQLMAGTHPERVLSL  
TSIMSSNNSLLPPPKSALRVLIAPRVKVETEEQFVTFGLEMMMSKLAGT  
LPQKKEELAAMYRAAWARGI  
NPRGIRNQFLAITATGSLSKTLKQIQCPPTVIHGGADPLIRPAGGKASAR  
AIRGAKLVIIPGMGHDFPPS  
VIDRIGELIAETAGRANSVPPAVG  
>CAE26953.1\_PLA  
MSDLVWSRDGLDWPHEASRFIEAGGFRWHVQRMGSPAAPAILLIH  
GTGAASHSWRGLAPLLSRHYHVVA  
PDLPGHGTQTTPRGHRMSLPGMASDLAALLRVLQVAPQLVVGHSAG  
AAILARMCLDGSIDPKILFSLNGA  
FLPYGGPAAFFSPLAKMLVMNPFVPSLFAWQAGHRGAVERLIGNTG  
STIDPAGIKLYGKLVSPNHVAA

ALRMMANWDLEPLLKALPNLKPLLVLVAAEGDRAIPPSVAVKVVREILPK  
AVIERIPALGHLAHEERPALI  
AALIERIAEKLENIE  
>Q6N9M9\_PLA  
MSDLVWSRDGLDWPHEASRFIEAGGFRWHVQRMGSPAAPAILLIH  
GTGAASHSWRGLAPLLSRHYHVVA  
PDLPGHGTQTTPRGHRMSLPGMASDLAALLRVLQVAPQLVVGHSAG  
AAILARMCLDGSIDPKILFSLNGA  
FLPYGGPAAFFSPLAKMLVMNPFVPSLFAWQAGHRGAVERLIGNTG  
STIDPAGIKLYGKLVSPNHVAA  
ALRMMANWDLEPLLKALPNLKPLLVLVAAEGDRAIPPSVAVKVVREILPK  
AVIERIPALGHLAHEERPALI  
AALIERIAEKLENIE  
>P29600.1\_PLA  
AQSVPWGISRQVQAPAAHNRGLTSGSVKVAVLDTGISTHPDLNIRGGA  
SFVPGEPSTQDGNHGHGTHVAGTI  
AALNNSIGVLGVAPSAELYAVKVLGASGSGSVSSIAQGLEWAGNNGM  
HVANLSLGSPPSATLEQAVNSA  
TSRGLVVAASGNSGAGSISYPARYANAMAVGATDQNNNRASFSQY  
GAGLDIVAPGVNVQSTYPGSTYAS  
LNGTSMATPHVAGAAALVKQKNPSWSNVQIRNHLKNTATSLGSTNLY  
GSLVNAEAATR  
>P29599.1\_PLA  
AQSVPWGISRQVQAPAAHNRGLTSGSVKVAVLDTGISTHPDLNIRGGA  
SFVPGEPSTQDGNHGHGTHVAGTI  
AALNNSIGVLGVAPSAELYAVKVLGADGRGAISSIAQGLEWAGNNGM  
HVANLSLGSPPSATLEQAVNSA  
TSRGLVVAASGNSGAGSISYPARYANAMAVGATDQNNNRASFSQYQ  
AGLDIVAPGVNVQSTYPGSTYAS  
LNGTSMATPHVAGAAALVKQKNPSWSNVQIRNHLKNTATSLGSTNLY  
GSLVNAEAATR  
>P00780.2\_PLA  
MMRKKSFWLGMILTAFMLVFTMAFSDSASAAQPAKNVEKDYIVGFKS  
GVKTASVKKDIKESGGKVDKQFR  
IINAAKAKLDEKALKEVKNPDVAVVEEDHVAHALAQTVPYGIPLIKAD  
KVQAGGFKGANVKVAVLDTGI  
QASHPDLNVVGGASFVAGEAYNTDGNHGHGTHVAGTVAALDNTTGV  
GVAPSVSLYAVKVLNNSGSGSYSG  
IVSGIEWATTNGMDVINMSLGGASGSTMKQAVDNAYAKGVVVVA  
AAGNSGSSGNTNTIGYPKYDSVIA  
VGAVDNSNRSASFSSVGALEVMAPGAGVYSTYPTNTYATLNGTSM  
SPHVAGAAALILSKHPNLSASQV  
RNRLSSTATYLGSSFYGKGLINVEAAAQ  
>D4Q9N1\_PLA  
MSVTTPRREASLLSRVAVAAAAATVALAAPAQAANPYERGNPTE  
SMLEARSQPFVSEERASRLGAD  
GFGGGTIYYPRENNTYGAIAISPGYGTQSSIAWLGERIASHGFVIAID  
TNTTLDQPDSTRARQLNAALD  
YMLTDASSSVRNRIDASRLAVMGHSMGGGTLRLASQRDLKAAIPLT  
PWHLNKSWRDITVPTLIIGADL  
DTIAPVSSHSEPFYNSIPSSDKAYLELNNATHFAPNITNKTIGMYSVAW  
LKRFDVDEDTRYQFLCPGPR  
TGLLSDVDEYRSTCPF  
>BAK48590.1\_PLA  
MSVTTPRRETSLLSRALRATAAAATAVVATVALAAPAQAANPYERGNP  
TESMLEARSQPFVSEERASR  
FGADGFGGGTIYYPRENNTYGAIAISPGYGTQSSIAWLGERIASHGFV  
VIAIDTNTTLDQPDSTRARQLN  
AALDYMLTDASSAVRNRIDASRLAVMGHSMGGGTLRLASQRDLK  
AAIPLTPWHLNKSWRDITVPTLI  
GAEYDIASVTLHSPFYNSIPSPDKAYLELDGASHFAPNITNKTIGMY  
SVAWLKRFDVDEDTRYQFLC  
PGPRTGLLSDVDEYRSTCPF  
>E9LVH8\_PLA

MANPYERGNPTDALLEASSGPFVSEENVSRLSASGFGGGTIYYPREN  
NTYGAVAIISPGYTGTASIAW  
LGERIASHGFWITIDTITLDQPDRAEQLNALNHMINRASSTVRSRI  
DSSRLAVMGHSMGGGGTLRL  
ASQRPDKAAIPLTPWHLNKNWSSVTVPTLIIGADLDTIAPVATHAKPF  
YNSLPSSISKAYLELDGATHF  
APNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYTQFLCPGPRDGLFGEVEEYRST  
CPF  
>E9LVH9\_PLA  
MANPYERGNPTDALLEARSGPFVSEERASRFGADGFGGGTIYYPRE  
NNTYGAVAIISPGYTGTQASVAW  
LGERIASHGFWITIDTNTLDQPDSSRARQLNAALDYMINASSAVRSRI  
DSSRLAVMGHSMGGGGTLRL  
ASQRPDKAAIPLTPWHLNKNWSSVTVPTLIIGADLDTIAPVLTHARPF  
YNSLPTSISKAYLELDGATHF  
APNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYTQFLCPGPRDGLFGEVEEYRST  
CPF  
>P06873.2\_PLA  
MRLSVLLSLLPLALGAPAVEQRSEAAPLIEARGEMVANKYIVKFKEGSAL  
SALDAAMEKISGKPDHVYKN  
VFSGFAATLDENMVRVLRRAHPDVEYIEQDAVVTINAAQTNPWGLAR  
ISSTPGTSTYYYDESAGQGSVCV  
YVIDTGIEASHPEFEGRAQMVKTYYYSSRDGNGHGHGTHCAGTVGSRTYG  
VAKKTQLFGVKVLDNNGSGQYS  
TIIAGMDFVASDKNNRNCPKGVVASLSLGGGYSSVNSAAARLQSSGV  
MVVAAGNNNADARNYSPASEP

SVCTVGASDRYDRRSSFSNYGSVLDIFGPGTSILSTWIGGSTRSISGTSM  
ATPHVAGLAAYLMTLGKTTA  
ASACRYIADTANKGDLNIPFGTVNLLAYNNYQA  
>P52956.1\_PLA  
MHLRNIVIALAATAVASPVDLQDRQLTGGDELDRDGPCKPITIFARAST  
EPGLLGISTGPAVCNRLKLAR  
SGDVACQGVGPRYTADLPSNALPEGTSQAAIAEAQGLFEQAVSKCPDT  
QIVAGGYSQGTAVMNGAIKRLS  
ADVQDKIKGVVLFGYTRNAQERQJIANFPKDKVKVYCAVGDVCLGTL  
IVAPPHFSYLSDTGDASDFLLS  
QLG  
>BAC67242.1\_PLA  
MLVSALALAVLSAASLGRAAPTPEAEAEHELEARATSSACPQYVLINTR  
GTGEPQGSAGFRMTNSQITA  
ALSGGTIYNTVYTADFSQNSAAGTADIIRRINSGLAANPNVCYILQGYSQ  
GAAATVVALQQLGTSGAAFN  
AVKGVFLIGNPDHKSGLTCNVDSNGGTTTRNVNGLSVAYQGSVPSGW  
VSKTLDVCAYGDDVCDTAHGFGI  
NAQHLSYPSDQGVQTMGYKFVAVNKLGGSA  
>BAN66731.1\_PLA  
MQFKSTFAALVLAAGLVQAAPLQERAGCSSYIINTRGTSEPPQGPSV  
GFRTMNTRIRSAVSGGSEYDTV  
YPAGIDQNSAQGTANIVAQVKAGLARNPNTCFLLEGYSQGAAATCNA  
LPQLTGAAFDVAVKGVILIGNPEH  
KPNLACNVDSGNGGKTTFSARGISAAFTQGVPSNWWVSKTLDICIYGDGV  
CDVSSGFGITPQHLTYGYNTNV  
QTMGANFGIKALQG

## Annexe 4 : Liste des séquences protéiques d'intérêt potentiellement impliquées dans la dégradation du PU

>G9BY57.1\_PU  
MDGVLWRVRTAALMAALLALAALVWASPVEAQSNPYQRGNP  
TRSALTADGPFVATYTVSRLSVSG  
FGGGVIYYPTGSLTFFGGIAMSPGYTADASSLAWLGRRLASHGFVVLVI  
NTNSRFDYPDSRASQLSALN  
YLRTSSPSAVRARLDANRLAVAGHSMGGGGTLRIAEQNPSLKAAPLPT  
PWHTDKTFNTSVPVLIVGAEAD  
TVAPVQSHAIPIFYQNLPTSTPKVYVELDNASHFAPNSNNAAISVYTISW  
MKLWVDNDTRYRQFLCNVNDP  
ALSDFRTNRRHCQ  
>CBY05530\_PU  
ANPYERGNPTDALLEARSQPFVSEENVSRLSASGFGGGTIYPPRENN  
TYGAVAISPGYTGTEASIAWL  
GERIASHGFVITIDITITLDQPDSTRAEQLNAAALNHMINRASSTVRSRID  
SSRLAVMGHSMGGGGSLRLA  
SQRPDLKAAIPLTPWHLNKNWSSVTVPTLIIGADLDIAPVATHAKPFY  
NSLSSISKAYLELDGATHFA  
PNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYTQFLCPGPRDGLFGEVEEYRSTC  
PF  
>ACY96861.1\_PU  
MSLRKSFGLLSATAALVAGLVAAPPAQAAANPYQRGPDPTESLLRAAR  
GPFVAVSEQSVSRLSVSGFGGR  
IYYPTTTSQGTGFAIAISPGFTASWSSLAWLGPRLASHGFVIGIETNTRL  
DQPDSTRGRQLAALDYLQ  
RSSVRNRVDASRLAVAGHSMGGGGTLEAAKSRSLKAAIPIAPWNLK  
TWPEVRTPTLIIGELDSIAPV  
ATHSIPFYNSLTNAREKAYLELNNASHFFPQFSNDTMAKFMISWWMKRF  
IDDDTRYDQFLCPPRAIGDIS  
DYRDTCPHT  
>ACY95991.1\_PU  
MKRTLKRALSLPAALAAASALVAASPAQAAANPYQRGNPTEASITA  
ARGPFNTAEITVSRLSVSGFGG  
GKIYYPTTTSSEGTGFAIAISPGFTAYWSSLEWLGHRASQGFVIGIETN  
TTLDQPDQRGQQLAALDYL  
TQRSVNRVDASRLAVAGHSMGGGGTLEAAKARTSLKAAIPIAPWNLK  
LDKTHWPEVRTPTLIIGELDAVA  
PVATHSIPFYNSLTNAREKAYLELNNASHFFPQFSNDTMAKFMIAWWMK  
RFIDDDTRYDQFLCPPSTGLL  
SDFSDARFTCPM  
>ANG60415.1\_PU  
MTTDLHLKSLVEELAPLASKSLSPVELTKAILDFAEESQPKINSYMAFYRE  
EALARAKEVEQEILQGHYK  
GMYHGIPMALKDNLKDFKDKITTMSSKIHKDFVSDYDATVVEKLRDAGV  
IFTGKLSMHEYAWGITNNNNPHY  
GPVRNPWDLKIPGGSSGSGAAVAAGASVASLGTDTAGSIRIPSSAC  
GIVGLKPTHGRVSKYGCYPLAW  
SLDHIGPMTKTKVKAAGLLEVIAGFDHQDPTCVNVPVDNYEKQLTGNI  
KDLVIGINEEYFFNNVDADVEK  
AVRASISLQSLVDSGAKVEVVRIPSLQYAEWAELVLSLSEAAIHHSDLQK  
RPQDFGDDIRLLFELGELPSA  
VDYLQAQQVRRQIKQEFTEIFNKVDVLISPTLPVASTIGDDFAELNGQK  
VDLIDNIIRFTGPNLTGLP  
ALSVP CGFGKGNLPIGLQIGPAFKEGRILNVGYAVEQANPQRNRKPNIF  
ANI  
>AGT90042.1\_PU  
MSDDLHYLSATEAIEHFRTRRELSPELLQAVVDRTQKFEPHINAFTEEM  
FDEALTGAREAESRYLGHGPD  
PRPLEGIPVAAKEKHAIAAGKSLTEGSLAARGNIARENAPVIDRVLAAAGL  
IHARTTTPFCVAAFTHSPL  
WGVTRNPWNLDYSPGGSSGAGAALAAAGTTTLATASDIGGSTRGPA  
GFTGTVGLKASYGRIPGVAPLSMD

SYRGDGP MARTVDDAILLANVLIGDPDRDHSSLRPAIMLPHEYSVEG  
MRIALCLRLGDFPIEPDIEANT  
QALAQSLVDAGAVEEIELPWTRDSMAAAVKVHFGTIMGASVAEVAR  
VHGDLLADYLDNVAITSKGAAE  
MSFLDGLRKETQMRELAEMAPFDALICTSGTIAFPAGESLLDGLTV  
AGQHVNTTAEALLTPFNVAN  
RCPVLAVPSGHAHNGVPTGVQVGHYDEPTVFRIGKALEKIRPWAYT  
DQHQPRLDVPVAPASS  
>ARF18137.1\_PU  
MAKELIQSVEELAPLLENGSLSPVELTNAVLDHAEETQDTINAYMTIYR  
EEAEQSAREAEKEIKNGNYR  
GMYHGIPMALKDNLKFKGVVTTMSSKIHKDFIPEDDATVVKLRDAGV  
IFTGKLSMHEYAWGITNNNNPHY  
GAVRNPWDTDRIPGGSSGSGAAVSISSVASLGTDTAGSIRIPSSICGI  
VGLKPTHGRVSKYGCYPLAW  
TLDHIGPMTKTIKDAAGMMDIISGFDEKDPSTVNTVPVNLHKKIKGDV  
SNLVIGVNEDEFFNRVDEVDQ  
VVRGNIKALTDQGAKEVVKIPSLKYAEWAELVLSLSEASAIHHEDMLK  
RPQDFGDDIRMLFELGELPSA  
VDYLQAQQVRRQIKQEFEEVFKKVDVLIAPLTPVASTIGADTVELNGE  
QVDLIDNIIRFTGPNLTGLP  
ALSVP CGFGKGNLPIGLQIGPAFSEALLDVGVAIEQTNPMKNRKPNLL  
TKA  
>BAA76305.1\_PU  
MNSRSLTKAIRFPTILALAGFVSLGACGGSDNDSSNNQGAFAVAITVA  
GQVQAVDRMGRRYFIPFAA  
PPVGNLRWMPAPPQSWAAPLAKTQSNAPCMQTGATDPLRLPNGT  
EDCLYLDVHAPATGEGFPFVVMWIIH  
GGAFSIGGTITYADPSPLVSKGVIVVNIAYRMGAMGFLGHPSLRAADG  
TVGNYGIMDQQAALRWVQDNIA  
AFGGDKSNVTFGESAGGFVSMTHLASPLSKGLFAKAIQSGGYGDR  
QLTQAQLEAQSTSVNSALAAA  
GVSCPTVDAACLRLGSAELVNNQLATAFTTANWSPVSDGKVLPKSI  
KATFVAGENNKVPLVNGSNQDE  
WSYFVASRELVAGPLTAAQYPSYLQTSGLPPLATVYPLTDYGTNTAQ  
QPSLAATAAGTDMHFSPALN  
LSKRVLSQLATPIFMYEFRDRTAIPISGRNTISFNQAGHTYELQYLFNLR  
DLETAEHRDLQASMARYWTN  
FARTSNPNNGDPVATSWPAFTGPTKVLGLDVASAGGIRELATFETDHK  
CNTAWTSLTF  
>AAD22743.1\_PU  
MGVFDYKNFTASDSKALFSDALAITLSYHNIDNGFAEGYQHNGFGLG  
LPATLVATALIGSGNSQGVIPGI  
PWNPDSEKALDALHQAGWSTISAAQLGYDGKVDGRGTFEKEKAGY  
GTAQVEILGKYDAQGHLESIGIAF  
RGTSGPRESVISDTIGDVINLLAALGPKDYAKNYAGEAFGKLLGDVAA  
FAQANGLSGKDVLSVGHSLGG  
LGVNSLADLSSERWSGFYKDSNYIAYASPTQSASDKVLNIGYENDPVR  
ALDGSTFNLSLGVHDAHQDS  
ATNNIVNFNDHYASTLWVNLPSILNIPTWLSHLPTGYGDGLSRVLESK  
FYDFTSKDSTIVVANLSDPAR  
ASTWVQDLNRNAETHKSTFIIGSDGNDLIQGGSGNDYLEGRAGNDT  
FRDSGGYNIILGGQGSNTLDLQ  
SVKNYSFASDGAGTLYLRDANGGISMTRDIGAIQSKEPGLWGLFKDD  
VIHQVTDQGLKAGGQLTQYASS  
VRGDAGDNVLAHAGGDWVLFGLDGNHLLIGGQGNVDFVGGAGND  
LMEAGGGNNTFLFTGHFGQDRILGYQ  
GGDKLVFMGVSGVLPDQDYRAHASSGNDTVLTFGQDSVTLVGVSL  
HLNGSGIVLA  
>AAF01331.1\_PU  
MSMSIFDYKTALGGDGKALYSEAITLALYASTPTGEALPGTAWRPISVS  
QLGYQGNVSAQGTISGEQAV

SDAQSRCWANTTRPGSCCPSASSFRGTRQPQGRYQRLAGGLRVGLLP  
TTTSRLAFDNLGKVAFAAAQGG  
LSGSDVLTGHSLGGLGGQPRGHEQSRSLGRLLPGRQLLGFASPTQSA  
NSSQVLNIGYETTRCSAPWTAL  
ISTALSGLTHWQAPGVATNNIVSFTDHYSSFLGEVDSPEHPQSAVLVGP  
QCGGLRRRLNRLNSDFYDLT  
SRDSTVVISNLSEGRDQVWVKDLNLYAEKHTGSTFIIGTQSNLLHGG  
KGNLDYLDGGAGDDRFRDDGGY  
NIIHGQGHNVLELQQPLKNFSIANDGDGTLYIRDAYGGISMTRDVG  
LVSHETGSWWQLFGKDVSHSVT  
ADGLQNGNQWTAYNHSNGDAYGNALVASVDGDWLFHGGDDLL  
SSDKANVTFVGGTNDVMHSSGGGGN  
TFLFSGNFDFLIHQYQNTDKLVFMGVPVDAHYDYSQHLNQNGNDT  
LVQVGFELRVNPPWWSAWTSL  
GSGLVFA  
>AAF66684.1\_PU  
MAITLYSYHNLNDFAVGYQNNGLGLPLATLVSAIIGGSNAQGVIPG  
IPWNPDSEKPALEAVQAAGWTP  
ISASTLGYTARSMHAAPTAKNSATARRRRCWASTMTLATAGNRHQ  
FPRHFRASGKCDHRLHRRCDQRP  
ARRLRAQGLCQELRGGGFWRVAQRLADTLPGLGGNDVVSVSHSLG  
GMVNSMADLSDSTWSGFYKDANY  
LAYASPTQSAGDKVLNVGYENDPVFRALDGGSSFNLSLGVHDKAHESS  
TDNIVSLNDHYASSLWNLVLPFS  
ILNLPTWVSHLPTGYDGMTRILDSGFYEQMTRDSTVIVANLSDPARA  
TTWVQDLNRNAEAHKNTFIIG  
SDGDDFIKGGGADFIKGGKNDTIRDSSGHNTFLFSGQFGNDRVIGY  
QATDKLVFNDVAGSTDYRDHVK  
VVGDDTVIGFGTDSVTLVGVSSLSGEGIVIS  
>AA92471.1\_PU  
MGVFDYKNFTASDSKALFSDALAITLYSYHNIDNGFAEGYQHNGFGLG  
LPATLVTAIIGSGNSQGVIPGI  
PWNPDSEKAALDALHQAGWSTISAQQLGYDGKVDGRGTFEKEKAGY  
GTAQVEILGKYDAQGHLESIGIAF  
RGTSGPRESVISDTIGDINDLLAALGPKYAKNYAGEAFKLLGDVAA  
FAQANGLSGKDVLVSHSLGG  
LGVNSLADLSSERWSGFYKDSNYIAYASPTQSASDKVLNIGYENDPVFR  
VLDGSTFKLSLGVHDAHQDS  
ATNNIVNFNDHYASTLWNLVLPFSILNIPTWLSHLPTGYDGLTRVLESK  
FYDFTSKDSTIVANLSDPAR  
ASTWVQDLNRNAETHKSTFIIGSDGNDLIQGGSGNDYLEGRAGNDT  
FRDSSGGYNIILGGQNSNTLDLQQ  
SVKNYSFASDGAGTLYLRDANGGISMTRDIGAIQSKPEGFLWGLFKDD  
VIHQVTDQGLKAGGLTQYASS  
VRGDAGDNVKAHAGGDWLFGLDGNHDLIGGQGNVDFVGGAGND  
LMEAGGGNNTFLTFGHFGQDRILGYQ  
GGDKLVFMGVSGLVDPQDYRAHASSSGNDTDLTFGQDSTVTLVGVSL  
HLNGSGIVLA  
>AA92474.2\_PU  
MSIFDYKTAGLGGDKALYSEAITLALYASTPTGEALPGTAWRPISASQLG  
YQGNVSAQGTISGEQAIUSD  
AQVEVLGKYDASGQLLSIGISFRGTDLSLKDGINLQAAAFVSGFADNYSR  
LAFDNLGKVAFAAAQGLSG  
SDVLVTGHSLGGLGVNSLAAMSSDHWGGFYQDASYVAFASPTQSAN  
SSQVLNIGYENDPVFRALDGTFFN  
ASSLGHDKPQESATNNIVSFTDHYSSFLGKLIPOQSILNPQSWSAHSVA  
DYAGGLNRLNSDFYDLTSRD  
STVVISNLSEGRDQVWVKDLNLYAEKHTGSTFIIGTQSNLLHGGK  
NDYLDGGAGDDRFRDDGGYNI  
HGGQGHNVLELQQPLKNFSIANDGDGTLYIRDAYGGISMTRDVGALV  
SHETGSWWQLFGKDVSHSVTADG  
LQNGNQWTAYNHSNGDAYGNALVASVDGDWLFHGGDDLLSSDK  
ANVTFVGGTNDVMHSSGGGGNTFL  
FSGNFDFLIHQYQNTDKLVFMGVPVDAHYDYSQHLNQNGNDTLLS  
VGFESVTLVGVGMDLSLGSGLVF  
A  
>AAK28498.1\_PU  
MSLGPALATKEQIREIAADYGLPMTDEEVADHIELLKGAIASYRELEHIPE  
RKLVPKYPRTPGWRPTTQE  
NPLNGWYWRCEIEGAKEGPKLGDRIAIAKDVVVCVAGVPMNGSKLLE  
GYVPEIDATVTRMLDAGATVIGK

SACEDFSFSAGGMTCTSTGVPVGNPYDPTRNPGASSNGSAVLISTGQVDL  
AIGGDQGGIIRLPSAWCGVYGL  
KPTYGLVPTYGCAMIEGLDHDVGPMASSPKGIKLLSVIAGYDADDPR  
QQGRIVPGFDTNYPALERGVK  
GMKIAILKEGFGHDGSDGMLASDPLVDDCVRSAMETFRGLGAEVAEV  
SIPHELTAWHIWTAIGLEGFTAF  
GVNNGVGTNWNGWYNTSMAEYLARAMKSRPYDMPATVRSVLIR  
GEYFRYYHNRYYGKAQNQRHLINEA  
YDRVLSEYDIIVCPTIPGLPTKMVDRDAGTLDTVNQLNQLRNTAVCDL  
TGHPMSVPCGLREGLPVGMM  
LTAKHFDDATLIAAAAAFEAGDWRKM  
>ACD16728.1\_PU  
MPLDPNYPRLDLYGRHPVQANWPGRRARVAVQFVLYNVEEGENCVL  
HGDPSQEQFLSEIVGAASFARHM  
SMESIYEGSRAGVWRILREFEKRKLPLTVFGVMAVERHPELARAFAVE  
LGHEIACHGYRWIHYQDMAPE  
KEAEHMRMGMEAIERTGERPLGWYTRDSDPNTRRLVAEYGGFLYDS  
DYYGDDLPFWMVDVDTGGAKVPQ  
LIVPYLTDNDRFASPPQGFNTADHFFTYLRDAFDVLYEEGDEAPKML  
SIGMHCRLLGRPGFRALQRL  
DHIEQHDRVWVTRRVDIARHWREHHPYQQNNRGA  
>ACY56506.1\_PU  
MGYITVGNENSTPIELYEDQSGQPVLHGYPLNGHSWERQTRRELL  
AQGYRVITYDRRGFGQSSKVTG  
GYDYDTFAADLNTVLETLDRDVLVGVFSGMGTGELARYVGTYGHDRV  
AKLAFASLEPFLVQRDDNPEGV  
PQEVFDGIEAAAKGDYAWFTDFYNNFYNLNDENLSRISQVVDAN  
WNLSVTSAPVAAYAVPTWIEDFR  
GDVDAVRDAGKPTLILHGTDKNDILPIDATARRFHKAVPVATYVEVEGAP  
HGLLWTHADEVNAALKTFKLG  
SLA  
>P20261\_PU  
MELALALSLIASVAAAPTATLANGDITGLNAINAEFLGIPFAEPPVGNL  
RFKDPVPYSGSLDGQKFTS  
YGPSCMQNPEGTYEENLPKAAALDLMQSKVFEAVSPSEDCLTINVV  
RPPGTKAGANLPVMLWIFGGGF  
EVGGTSTFPPAQMITKSIAMGKPIIHSVNYRVSSWGLAGDEIKEAGS  
ANAGLKDQRLGMQWVADNIAA  
FGGDPKVTIFGESAGSMSVMCHILWNGDNTYKGLPFRAGIMQS  
GAMVPSDAVDGIYGNIEFDLLASN  
AGCGSASDKLACLRGVSSDTEADATNNTPGFLAYSSLRSLYLRPDGVN  
ITDDMYALVREGKYANIPVII  
GDQNDGTFGTSSLNVTTDAQAREYFKQSFVHASDAEIDTMTAYPG  
DITQSPFDTGILNALTQPKR  
ISAVLGDGLFTLARRYFLNHYTGGTKYSFLSKQLSGLPVLGTFHSNDIVF  
QDYLLGSGSLYNNAFIAFA  
TDLDPNTAGLLVKWPEYTSSSQSGNNLMMINALGLYTGKDNFRTAGY  
DALFSNPPSFFV  
>XP\_036664376\_PU  
MLTDNWKELAGKAQSTFQKSLKQAIELADFDEGLAKRYGALPSAIGAN  
VEDFGSPAQFPLEEYLKALPKK  
VLDITEKDPVELLKDLSRKTVCVEVLKAYTAASIVASKLTNCVQEFLPIE  
ALQYAKLDADYETKKHLP  
LYGLPFSIKEMIPFVGRSVTHGSLCYLDRIVDYNADIVNLIANGAYPFVR  
TTNPQSLMMLECVSFSHGR  
TVNAYNGMLTSGSSGEGALNGMRASPFGLGSDIGGSIRCPAAFNG  
IYGLRSTLGRIPTADYFSCNRGS  
ESILSVTGPLSRSLDTVNLVMTKVIKAPWLIDPTLPLDWRKRPENKFR  
VGIYVSDHIVNPPPINRAL  
SMVTEKLSLGNFEVVTFFEPYKPEKVEILGKLYFEDGARDFRATLQTGE  
PLLEQTRWAIEGAEDLDMHD  
QWYWNLQKQAYRKEFLKHWCSTYDNDGNVLDVIAVPVFNVAACH  
ETTKYWTYTSQWNLDDYVPLAFPVT  
KVDESLDQPYKNYKPLNDLKYFYEQYDSSPSSFKNAPANLCLVGLRFTD  
EKLVEIANILRN  
>Q12559\_PU  
MPSASWEDLAADKRARLEKSIPDEWFKFSVPIEGSVIDLPEKSGILSPSEI  
KITNSSATELVAQLANGTL  
KSVDTVLAFCRAALAHQLVNCADHFFPELALAQARELDYFETHKKP  
VGPLHGLPISLKDQLRVKGTET

CMAYISWLGKRDTSILTALLRKAGAVFLVKTSPQTLMVCETVNNII  
GRTSNPRNLNLSCGSSGGEG  
AMIAMRGGGAIIGTIDIGSIRVPAAFNSLYGIRPSHGRLPYGGMTNSM  
EGQETIHSVVGPIAHSADQVRL  
FLQSVLKEEPWKYDKVIPLPWREAENAAQAKIAEKSLNFAFYDFDGV  
VRPHPPITRGVEIVRSTLEKD

GHTVAPWTPYKHAFVAVDLANKIYAADGSTDVYKHINASGEPaipNIK  
LMNPNLPKADLNEVWDAQLQKW  
RYQCEYLDKWREWEERTGKELDAIIPVAATAAVRHNNQFRYYGYATVF  
NVLDYTSVVVPVYADKAVDHR  
LADYQPVSDMDKAVYAEYDPEVYHGAPVAVQIIGRRRLSEERTLAIIEVY  
GKLLGH

## Annexe 5 : Liste des séquences protéiques d'intérêt potentiellement impliquées dans la dégradation du PBAT

>WP\_003460012\_PBAT  
MRAWVWLSGALALMFWAQGAVAGTLLVVGDSISAAFLDLSRQGWV  
ALLEKRLSEEGFEHSVNVASISGDT  
AGGAARLSALLAEHKPELVIIELGGNDLGRGQPPAQLQQNLASMEVQS  
QQAGAKVLLGMLKPPNYGVRY  
TTAFAQVFTDLAEQKQVSLVPPFLEGGVGGVPGMMQADGIHPAEAAQ  
EILLDNVWPTLKPML  
>BCL64964\_1\_PBAT  
MKRRLIAYSIAALASATAVALPTGVASAAPCSDVDVDFARGTGELPGL  
GITGTPFVNSVKSQSDRSVS  
TYAVNYAADFTQASAGPSRDLVAHLNSVAASCPSTKFIGGYSQCAT  
VVTNAVGLRTPSSFTGAVIPAA  
IADRIEAVVVFNGPFLTRKTIETASSTYGSRTNSFCNFGDPVCQJGGF  
NTFAHLTYGTNGSTTQASFA  
AAQVRS  
>ALS54749\_1\_PBAT  
MAKQFLYDNLPPVETKAGLRGQWEGTYIFKGIYARANRFQPEEV  
EPWEGVKEAASYGFVCPMLTRD  
HPQGELLVPHRYWPQDEDCLSLNIWSQSLDRSARKPVMFWIHGGAFS  
MGSSIEQKAYNGENMSRYGDVVV  
VTVNHRLNILGYLDLSPYGERYAGSANAGQADLVAALKWVRDNEAFG  
GDPDNVTFGQSGGGMKVSGLM  
QTPEADGLFHRAMIMSGVAGDVLVYPTSGDSRPLIQAMLKELGLAEQE  
AGRLETVPYYDLAAAYNRVSPA  
ARAGGYIGCTPRPDDFYKGGPAGVFTDHAKTIPVMVGTVFGEFAM  
MPLPFNKETISEAELEIDKRFQ  
GHGKELKTVFAEAYPKSPVDLTLTDFRGTKEFVRSAAAGGSVSY  
LFALEFPYQNKQTAWHCSDL  
PFIFHNTELVPVTNIPEISDKLEKQMFDAVIHFVETGDPNHLGIPQWPV  
STEDREATMIFDRVCTVRFNF  
DDYLLLEYKALPNLTLANITQEDNQIQHALEHHHHHH  
>ADV92526\_1\_PBAT  
MANPYERGNPTDALLEASSGPFVSEENVSRLSASFGGGTIYYPREN  
NTYGAVAISPGYTGEASIAW  
LGERIASHGFFVITIDITLLDQPDRAEQNLNHNMINRASSTVRSRI  
DSSRLAVMGHSMGGGGTLRL  
ASQRPDKAAIPLTPWHLNKNWSSVTVPTLIIGADLTIAPVATHAKPF  
YNSLPSSISKAYLELDGATHF  
APNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYTQFLCPGPRDGLFGEVEEYRST  
CPF  
>BAI99230\_2\_PBAT  
MSVTTPRRÉASLLSRVAVAAAAATVALAAPAQAANPYERGNPTE  
SMLEARSFPFVSEERASRLGAD  
GFGGGTIYYPRENNTYGAIAISPGYGTQSSIAWLGERIASHGFFVIAID  
TNTLLDQPDSTRARQLNAALD  
YMLTDASSVRNRIDASRLAVMGHSMGGGGTLRLASQRDLKAAIPLT  
PWHLNKSWRDITVPTLIIGADL  
DTIAPVSSHSEPFYNSIPSSDKAYLELNNATHFAPNITNKTIGMYSVAW  
LKRFDVDEDTRYTQFLCPGPR  
TGLLSDVDEYRSTCPF  
>BAK48590\_1\_PBAT  
MSVTTPRRETSLSRALRATAAAATAVVATVALAAPAQAANPYERGNP  
PTESMLEARSFPFVSEERASR  
FGADGFGGGTIYYPRENNTYGAIAISPGYGTQSSIAWLGERIASHGFFV  
VIAIDTNTLLDQPDSTRARQLN  
AALDYMLTDASSVRNRIDASRLAVMGHSMGGGGTLRLASQRDLK  
AAIPLTPWHLNKSWORDITVPTLI  
GAEYDITIASVTLHSPFYNSIPSSDKAYLELDGASHFAPNITNKTIGM  
YVAWLKRFVDEDTRYTQFLC  
PGPRTGLLSDVDEYRSTCPF  
>EIW29778\_1\_PBAT

MDSVMQTKEMVMKSNVNSYPVLVHGFMGWGRNEVLGLKYWGGI  
TDYEQELSSYGYTAYTATVGPVSSNW  
DRACELYAYIKGGTVDYGHASTQKQHSRYGRYTPGLYPEWGNLTTE  
GKVNKIHLVAHSMGGQTVRTLQV  
LLKEGSEERNTPSLSLFFAGGKSWVHSITTIASPHDGTTLADGINIF  
GDFAKNLVSLASFTGAGEK  
LIYDFKLDQWGLNRKSGESLTDYTNRFNSAIWNSTNDLANWDLSTD  
GARVLNQWVKAQSDIYYSYSTC  
ATVPSILTSNELPHVIYMTPLLYPFGFRIGSYTRNEQGRVIDNSWKPND  
GVVNTISQNGPKIWSDDKIV  
NYNGVPPQIGKWNMPLDITDHMDACGIGNALTLSWYKGLAEKLSQ  
LTISN  
>AKZ20828\_1\_PBAT  
MAEPAQGTQKVESSTTKKEVKDAETIKIPTLEDIDNLIDSAEEVKSEE  
DINKMPLKFPVEFVENTR  
SIIGNNYIPLVHGFMGFRDELGGYKYWGGVVDLQEKLNASGHETY  
TATVGPVSSNWDRACELYAYIV  
GGTVDYGEAHAKFKHNRGRYTPGIYKNISNENKIHLIGHSMGGQTI  
RTLTLQELSGESEEINCGQENI  
SPLFEGGKHWIHSVSTISTPNDDGTLSDLMPAKDLISYTFGLGTITGKN  
KLFSSYDLKLDQWGLKQKQ  
GESRDYIERVLDNSIWNSTKDIATYDLSTEGAQELNTWVKAQPDVYV  
FSWTTQATKESILTGHSAQIG  
PMNPIFYPTANLMGRYSRNQKDLPIIDKWFNDGVVNCISQDGPKL  
GSDNVIEQYNGGKIGQWNAWMPR  
IINTDHMDIVGTGFGNVKDWYMDYASFLSNLSR  
>AKZ20829\_1\_PBAT  
MAGNSDAMGVGNYPVIMVHGCFGWGSNEGAGLYWGGKESLTQ  
KLTEKGYTVYSPSIGPVSSNWDRACE  
LYTYIVGTVDYGESHSKYGHERYGRSYPGVYKQIGTKDSSGNVQKIH  
LIGHSMGGQTIIRLLAQLENG  
DPNELSFTDGSINSLFTGGKSWVSSITSIATPHDGSQEAHICDIEPLTH  
QFVAAIAAIKGNVNLDDL  
NYDFQLDQWGLKRPKRESRLAYNNRVIKSEIWKTKDLSVWDLSPG  
AREFNSYVKAQSDIDYFSIACVN  
THEDKLTHFQVPPNKMNPVVKSSIFMGMVYTNNSKGEVPIDKSWWR  
NDGVVSVISAINPKVGSSTDKIVDY  
SGTAVKGTWNYLGELDNTDHEVCGMKYDRKGIEQMYFNVAEMLSK  
LPVE  
>BAV72205\_1\_PBAT  
MKVILFKRSLQLVALALVIGSMFIQPEVKAEEHNPVVMVHIGGGA  
SYNFASIKSYLVGGQWDRNQL  
YADFIDKTGNRRNNGPRLSKFVDVLDKTKGAKKVDIVAHSMGGANT  
LYYIKNLDDGGDKIENVVTIGGAN  
GLVSSRALPGTDPNQKILYTSVYSSADLIVVNSLSRLIGAKNVLHIGVGH  
GLTSSQVKGYIKEGLNG  
GQNTN  
>4OYY\_A\_PBAT  
QLGAIENGLESANACPDAILFARGSTEPGNMGITVGPALANGLESH  
IRNIWIQGVGGPYDAALATNF  
LPRGTSQANIDEGKRLFALANQKCPNTPVVAGGYSQGAALIAAAVSEL  
SGAVKEQVKGFALFGYTNLQNLQ  
RGGIYNYPRETRKVCNVDGAVCTGLTIIPAHLSYTIARGEAAARFLRD  
RIRA  
>UUT36763\_1\_PBAT  
MFNQIGKKSALSMAAGSLMFSATALAIGGGGSGGGNNGGGGGCEA  
DCGYERGPDPVSLLEASTGPFV  
RTSNVSSVRFGGGGTIHYPTNTTGTMAAIVVPIPGFVSPESIAWWGP  
KLASHGFFVMTIGTNSGFDQPA  
SRASQLNNALDYLIQNGSSRSPINGMIDTDRLGVMGWSMGGGGTL  
RVATEGRVSAIPLAPWSSSSSQF

RSIDPTLIFACENDSTAPVRSHADPFYDAIPDSTAKAFVELDGGGHTCA  
NGSSGFGGSYNDVLSRLGV  
WMKHLHDKDQRYNQFVCGPNHESDRSISEYRGTCY  
>UUT36764\_1\_PBAT  
MFRTIAKNPVRSLIAAGSLLSASAFAGGGGGDGGCTSDCGFQR  
GPDPTVSFLEASSGPYSVRTDNV

SSLVGGFGGGTVHYPTGTTGTMAAVVIPGFVSAESSIEWWGPKLAS  
YGFVVMITDITNSGFDQPPSRATQ  
INNALDYLLEENDSSSSPYSGMIDPNRLGVIGWVSMGGGGLRVAEAG  
RIQAAIPLAPWDTSSLRFRNIET  
PTLIFACESDVIAPVGSHADPFYEAIPDSTDKAFFELNNGSHYCGNGNG  
SYNNELGRLGVSWMKLHLDDQD  
QRYNQFLCGPDHEDEYRISEYRGTCY

## Annexe 6 : Liste des séquences protéiques d'intérêt potentiellement impliquées dans la dégradation du PHA

>BAG32152\_1\_PHB  
MFDSVKIAWLVALGAAQVAATALPAFNVNPNNSVSVGLSSGGYMAA  
QLGVAYSDFVNFVGFVAGGPPYDC  
ARNQYYTSCMYNGYPSITPTANMKSWSGNQIASVANLQQRKIYMW  
TGSSDTTVGNVMMNLKAQLGNFD  
NSANVSYVTTTGAHVHTFPTDFNGAGDNSCSLSTSPYISNCNYDGAGAA  
LKWIYGLNARNTGTLGSGVLS  
FAQSGSYGANGMDTTGYLYVPQSCASGATVCSLHVALHGCLQSYSSIG  
SRFIQNTGYNKWADTNNMIILY  
PQAIPTYIHAIWNGVLSNPNGCWDVWVWGYGSNADQIGGVQMA  
AIVGQVKQIVSGFQG  
>KFJ10595\_1\_PHB  
MLKREEMVSSIPATPWRWAFTALAAAAAALACSGEHEPSNDLPKGT  
ELGATVYPATATGTGATAATQDL  
LTGGLGKTLGAAAAPLYADPANPTAAELRRNALYSNYRGILDPTAGG  
GYGTYLGNITANGQVTAGEGL  
IPGREYLAVLDDGTGRKQTMVAVQVPDSFDRNRPCIVLGPSSGSRGVY  
GAIGTAGEWGLKKGCAVALTDA  
GKGVGLHNLSDDTVKNLGDTRATRTDAGLSFFAARLTDAAARAYNA  
AFPNRIAIKHAHSQNPKEKDWGN  
DTLAAARYALVNLARYGTTQDPVFPKGDNTLVLAGSASNGGAVALR  
AAELDADGLIDGVVASEPVTEMP  
TRQGYTIAVGNATMPNPNPGRTLAEYTYGNIYQPCAALAPDAALTETSIF  
NYIGLTAMTARAEARCTSLAA  
KGLVIGATTADRAANALSKLRLYGWTRDHRMHNAHYALGNGPILSA  
MYTMAYGRFGVDANLRCRTSFAAA  
NATGDVVPATGAALAQSFATANGTANGTPATVVYNDVSVGGAKAWQ  
FAVSPSTRVADLGLDNALCQHALVT  
GFDPVTGFNLSESSVPTRAQSDAVRAGIAEVLHTAKLRGKPTIIVAGRS  
DALVPVNHARAYTVLNRGLD  
GNSNTRLRYEVVNAQHFDALFPFSGFDTRFVPLHPYFNQAMDVAWVAN  
LRSSTALPASQVVRTTPRGGQPG  
AAPAITAAQVPPFVARPSTANTIEVSDGLIRIPE  
>O82950\_PHB  
MTKQSLPQGMADQRLCRFFTAALCSLLMLLWPTTVTAGQTFSYTSP  
QQAYSRSRERSKYVYVPTGLSTP  
APMVMALHGCRQTNDVLDNWGLKAAADRYGFILVAPFITSYDGLR  
NENCWGFWEQHIIHQGGGEVADLH  
RIAQQVEANFVIDANRRFITGLSSGGAMALVAAYNEWAAAAAPAA  
GLPYRETASSVLSGQCPSGATF  
RSVSQVAADMSEVNDAYPIPLMILQNRNDCTVLQTAANNMRDAHL  
QVFGSASRNTPATTKASDTGCSY  
HQNDYGRHIAAYTQDGTATRSVLVETVIYDGLATPNPQDTNHGHYV  
IGGAQGNNGKWSLQVGPSPYDII  
WDFFSRHSRDSQPQGHVIVLQGDNPLSVPLGTFNDPGASASDAE  
DGSPLVSADCSAVNPSVVGYSYSC  
LYSATSDSGNRSTLRTVEVYDPNAPVETCQVVSASPSAHIGAGRAYA  
GGTSLNLRAYAKDDGVDIGGSFD  
TWSNVPLYEGEPGRWYAQRPAACGGSGQAFQTCQEWNASNLSHVMA  
GRAYGYTYVGGNQYGLSLSGLSTW  
VRETAQGHFQAGRCNS  
>Q51871\_PHB  
MRNTLKAFAKLGVISAALLAPFATQAATAGPGAWSSQQTWAADSVN  
GGNLTGFYWPATQPVHANGKRAL  
VLVLHGCAQTASGDVINNGDNGYVWKAADQYGAVALAPNATGNVS  
SQHCWDYSRTHSRSTGHEVYLLD  
LINRFKNDPQYIEIDPNQVYVTLGSSGGGETIVLGCIAPDVFAGWASNA  
GPTPGTTTTLQIGAVPSGYTATN

AKNNCLSLAGSNSSYFSTQIAGVWVWGTSDFTVAPGYNPLMMMDAMRQ  
IYGGFTTKQASTSVATGGTNTTYK  
DSSGRVTRHELVSVMGSHAWPAGTGGQNTNYVTSQYVNYPLFVMDY  
FFTNSRAGSGGGTTTTAGGTTT  
TTAAGTTTTAATTTTTASSTTTTVAATCYTSSNYAHVTAGRAHNSSGYA  
LANGSNQNMGLNNTFYTSTLK  
QTSPGYVYVIGTGP  
>Q939Q9\_PHB\_PhaZ7  
MISKLMGAQRFLPAVAATVTSLVWGLAGTLVAPGEAQLTCGTNSGF  
VCKGTQTYAGGFAPGVGYGGFG  
GGSCATKTPVIFIHGNGDNAISFDMPPGNVSGYGTPARSVYAEKAR  
GYNDCEIFGVTYLSSSEQGSAQ  
YNYHSSTKYAIKTFIDKVKAYTGKQVDIVAHSVMGVSMSLATLQYNN  
WTSVRKFINLAGGIRGLYCY  
YTYANAAAAPTCSQNYNSYTFGFFPEGWYVWVSNPWTGSGST  
NSMRDMPAKRTAVSFYTLASAGFKD  
DAYGCATASFWAGCDSAAKFASTTSNVKAQINVGAGSNATQADYDW  
ADGMPYNAGGGDTTNGVGHFRKTN  
TGAIQRMILLTCTGLDCAAEYTTGPKAAY  
>P94146\_PHB  
MTRSMPMSLVIAFLTLVAAAAPALAGAGAWQNNLSLGGFNKVLHYTP  
DGDSPVGNKALLVILHGCTQSI  
DAYKTANLEVAEEYGMVVAVPDAMNKAGFSCWSYWGKTSRSAG  
DYKNLINLANTLSGDAARGIDPNQV  
YIAGLSSGASFANTTACLAPDVFAVGVSVAGSPVGTSSSAGTCEQAD  
VESRCRDLGGGYQSAFDTQVA  
SIAHGDDTTVDTCYNRQNAEGMAGLYGVSEVAGSTVINADGGSAEE  
FLWQDGRVSMMLWFHGLDHSWSSG  
QGASGSYVSGASINRYLGGFFAEHNARIDNRVPTLAQVDVTASAD  
RIQVSGQASDEDGTVSSVAIVI  
EGVNGGGATLAAIDNNGYFQATSDPLADGLYTVAVTAADDDGGESE  
PAIRTVRVGPEPPASAPVLSIDIA  
VSDGGQCATVSGQVVDENQDLAGVTVFASGVRAAGIDGVRYSARA  
CDLPGGAQNAATVSAEDEGLSSGD  
QIDFVIDAGQATLDQHSAGRLDYNTYADCYLEYGADAFKLEATVSG  
QQQWQDDDASCAGPVQACSGA  
GGGGDPQPPGDECQTQSTYNYHYKAVGRAYSTGNYYAPDYFAQGS  
DEPMAGSTWGLTALYSEDGNNVWR  
LGECP  
>Q0KBZ6\_oligo  
MSASPRLGFVQCISPAGLHRMAYHEWGD PANPRVLVCAHGLTRTGR  
DFDTVASALCGDYRVVCPDVAGRG  
RSEWLADANGYVVPQVSDMVTLIARLNVEKVDWFGTSMGGLIGM  
GLAGLPKSPVRKLLLDVGPKLAPS  
AVERIGAYLGLPVRFKTFEEGLAYLQTTISASFGRHTPEQWRELNAAILK  
VQGTDGLWGLHYDPQLAVP  
FRKSTPEAIAAGEAALWRSFEAIEGPNVLRVGAQSDLLLRETVAEVVAR  
GKHVSSVEVPDVGHAPTFVDP  
AQIAIAPQFFTGA  
>Q0K9H3\_oligo  
MHSTQIPQKQKRRRLTLVAAAASMLAAACVSGDDNNNGNGSNP  
NTK PANIGTVTINSYNGTTDDLLT  
AGLKGDLASATAPLANPTAAELRRYAIHTNYRAIVDTTASGGYG  
SLYGNVDAQGNVTVGSDGKVA  
GVEYLAFSDDGSGQNVMTMLVQIPASFNSTKPCMITATSSGSRGVY  
AIATGEWGLKRGCAVAYTDKGTG  
AAPHLDDTDTVPLIDGTRATRAAAGKNAQFAAPAGATSLADFTAANP  
HRLAFKHAHSQRNPEKDWGKFTL



QAVEFAIWAINDRFGAVSANGTRQRTLDKDRIVVIASSVSNNGGAAVA  
AAEQDAGGLIDGVAVGEPNLNM  
PNPTGIVVQRGATPVAASGRTRYDYTTTANLLQHCAARATALTQAPFY  
TNPATATFFANRCQTLAEKGLV  
SGANTDEQSASALQALHDAGWEAESDDLHPSLAVFDVAAAISVNYAN  
AYAQASVTDRLCGYSFASTLTDL  
KPAAIAPALASMFATGNGVPPQPPVQLINDLDPQHGPYLNLASVSPS  
TLREDLNYDGANCLRSLLAGSD  
AAARALQAGQALTLRNGNLRGKPAVIVHGRSDGLLPVNHTSRPYLGLN  
RQQEGVTSKLSYVEVENAQHFD  
AFIGLVPGYSNRYVPLHVYLNALDAVYDNLTAGKALPPSQVLRTPRG  
GTLNTPAPALLPSNVPPFAAS  
PAAGNAITVNAVAVQVPD  
>Q0JY1\_Phaz7  
MPRSSGAKLWSTLNKAAARNARLQRAVNQNLTRPMEAIRNAVK  
QSAAVTAATQRALSGVSPVQAPQ  
NRGSGRWEEGAWGAPVAPRRYRIFVPAGVTASRRAPMLVLLHCGCQ  
DAASFAAVTRAAVAREAGVWVLL  
PEQTSQANAQRWVFRPGAQGGVEAGLLMALIDQACRHPVAA  
DRISVLGSLAGGAMALMLGLRYPGRF  
AAVGSHTGAVPWSASNAQAARAMRGGHGPDAKAMQALRFLAG  
RRPPPLLLLHGADHVVDFSNATAAA  
GMWMLHQPEDAHALSAAPARRIQRMRRAMDVFDWAEGKSPYVR  
LVRIEGLGHAWSGGAGGQAFSDPAGP  
DGLKLALRFFLEVGG  
>Q0JZG9\_Phaz6  
MTKSFAADWHAQIRRLSRAQARTEAQKSWLDRVDSLNLTPARP  
RPPGKVRPAPAPAGSLPGTWQA  
HRLRLAPLPGELVPLQSLYHLYPSKAHRGRLPVVVVHLGCRQTPDDL  
GTRMNALAEAREGFIVAYPQQP  
LRRQVQRWCWQWFDLGAEEGGREAQVAALIDALAAHHDVREIYL  
AGMSAGAAMAVALRYPGKVA  
ALHSGVIGAADNPRAGLRAMQQAADPSWLLDAAGVTPGGPEM  
PALVIHGLADDVHPVNGRLLARQF  
LAYNGLEDRLAGAPAQSGPEDEAPGRSHEYFRGRWRDLVTLVEVEG  
LGHAWSGGDASYGYHSDIGPDAS  
TMMWQFFSQHRR  
>Q0K2G9\_Phaz5  
MALYALRELTQLSLGPLGAMIEAGYRAVNFVWGESVAVLPLGLREADAA  
LELFRTLTKAYGKPSFEIDEV  
RGQRVAVTETALIEEPCFRLHFRKDMSPGPRVLLVAPLSGHYATLLR  
PTVEALLPGHDVYITDWA  
LVPLDAGHFDLGCYVDYLLKFLRYLGLAGTHIVAVCQPGVPVLCVAQ  
AEDNEQVQPRSMTLIAAPIDTR  
VSPTAVDQFAQQYSLAWFEANVIERVPAGYPGNRRVYPGFLQLAGF  
VSMNVAAHAGAHLDYRHLVDGR  
QSEARHRKFYDEYNAVLDVPAEYLETIKVFLHHLRGRMEVQGR  
RVYPEAIANVSLTIEGSEDDI

TGRGQTEAAHALCAGLAADRKEHLVVDGVGHYGTAFAGQRFRESILPA  
MTQFIQRCAD  
>Q7WXF6\_Phaz4  
MLRDVVQSLQEHIVYVTDWSNGAIALLASRDEATPTSLTLIGGPIDAR  
RSPTAIGRLASSRSIQWFRRN  
LVYVPHYPYAGAGRQVCPSPFVQLSGLAAQSSPLWGLCEGYWANLAR  
GDAERANVHWQALLDYSAVLDMA  
AEFYLDTVRTVFQEFQIAFGTWRVRGQLVQPDIRSTALLTIEGELDDIS  
GRGQTHAAHDLRCRGLSAHDR  
RLVTIAGCTHYDLFRGPVWHTVEFPWICDMTRDDM  
>Q0K4D5\_Phaz3  
MLYQLVEYQRALLAPFTAWAASAANAFIDPASPFAVYVPGASCFAAGYE  
MLYRLGRTCEKPSFGIITAIRR  
DGHVIAVAEQVIVEGPFCLLRFAPDMGALDPCTAPTPPVLCAPLAG  
HHAVMLREVQALLPEHVYVYV  
DWNDAARRVPAEGPFHLDQVAHLQAFIRRIAGEPLHLVAICQATVP  
ALAAVSLASAGEPTPRSLILVG  
GPVDARRSPTALGRLAARHSLAWFQRNLIYVQPYPGAGRKVCPSFL  
QLAGLAAAQPERLGEAYWDYCL  
DLVRCDPVRAKEHRRACDAYHAVLDMAAEFYLDTIQLVFQEFQLARG  
WQVRGEAVRPQDIRTTALLTIE  
GEQDEISGRGQTQAAHDLCCGIAACDKRHLTARQCGHYDLFCGPRW  
CTDVYPRIRDLTGHDT  
>Q0K7T2\_Phaz2  
MLYHAYQIYADMILPACTLAELAAATLAANPRSGGFDAVPRRAACELI  
ALVRLTHHRPAFGIDHATVGG  
QPVPVTEEVVARTPFCSLLHFRHGGVQPRVLLVAPMSGHFATLLRGT  
VQTMLADHDVYLTWDWHNPRDI  
PLLGRGFGDEFVQHLIGFLQTLGGGTHLVAICQPAVAALAAAALMAE  
DGDPAQPPSLTLMAGPIDARVN  
PTKVNALAMSQPLEWFERTLIGMVPLRFAGAMRRVYPGHVQLLAFM  
SMNPERHEQALRELYALRERGEHD  
KADAIRDFYIEYFATMDLTAEFYLETVSLVFQRFLLAQGLLDVSGRRVRT  
RAIHRALLTVEGERDDICA  
IGQTVAAQDLCSLRPYMRMHVQTVGVGHYGVFNRRWETQVYPL  
VRNTIYTSS  
>Q0KCI0\_Phaz1  
MLYQLHEFQRSILHPLTAWAQATAKFTNPLSPLSLVPGAPRLAAGYEL  
LYRLGKEYEKPAFDIKSVRSN  
GRDIPIVEQTVLEKPFCKLVRFKRYADDPETIKLLKDEPVVLAAPLSGH  
HATLLRDTVRTLLQDHKVYV  
TDWIDARMVPVEEGAFHLSYIYIYQEFIRHIGAENLHVSVQCPTVPVL  
AAISLMASAGEKTPRTMTMM  
GGPIDARKSPTAVNSLATNKSFEWFENNVIYTVPANYPGHGRVYPGF  
LQHAGFVAMNPDRLSSHYDFY  
LSLVEGDADDAEAHVRFYDEYNAVLDMAAEYLDTIREVFQEFRLANG  
TWAIDGNPVRPQDIKSTALMTV  
EGELDDISGAGQTAHAHDLGAGIPKIRKQHLNAAHCGHYGIFSGRRWR  
EIIYPLRDFIRKYHQASATR





## DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES



Cette thèse intitulée « **Communautés fongiques associées aux déchets plastiques marins et évaluation de leur potentiel en bioremédiation** » avait 3 objectifs principaux : (i) Étudier la biogéographie de la plastisphère, (ii) générer une collection d'isolats fongiques pertinents d'un point de vue environnemental et évaluer de leur capacité d'utilisation de polymères comme source de carbone, et (iii) procéder à une analyse ciblée d'une espèce modèle à potentiel de dégradation de polymères plastiques. Au travers des 3 chapitres correspondants et complémentaires constituant cette thèse, les résultats obtenus enrichissent notre compréhension de la diversité et de la dynamique de colonisation des communautés fongiques associées aux matrices plastiques, ainsi que de leur potentiel en termes de potentiel de biodégradation de polymères.

## Etude de la plastisphère fongique

Dans le cadre de cette thèse, l'étude de la plastisphère fongique a été rendue possible grâce à des collaborations multiples, impliquant la collecte d'échantillons de polymères immergés tant dans des environnements naturels le long de diverses côtes françaises que dans des environnements contrôlés, dans des aquariums de l'Observatoire océanologique de Banyuls.

### *Les plastiques en milieu marin, une nouvelle niche écologique pour les micro-organismes*

Une part significative de ces travaux s'est consacrée à l'exploration des communautés fongiques présentes sur des plastiques immergés à la surface de l'eau de mer dans trois zones géographiques distinctes : la mer Méditerranée, l'océan Atlantique et l'océan Indien. Une conclusion majeure sur la base des résultats d'écologie microbienne obtenus est que les communautés fongiques sur ces polymères diffèrent considérablement de celles présentes dans le milieu environnant. Ces résultats corroborent de nombreuses études antérieures qui ont également constaté cette distinction (Kettner *et al.* 2017; Kirstein *et al.* 2018; Oberbeckmann *et al.* 2018; Zettler *et al.* 2013) et s'alignent également avec les recherches sur les communautés bactériennes de la plastisphère (Caruso *et al.* 2023; Di Pippo *et al.* 2023; Dodhia *et al.* 2023; Dussud *et al.* 2018; Kesy *et al.* 2019; Oberbeckmann *et al.* 2018; Ogonowski *et al.* 2018; Pinto *et al.* 2019; Rajeev *et al.* 2019) (**Annexe 1**). La divergence marquée entre les communautés libres et celles

associées aux particules est cohérente avec la différenciation bien établie entre les communautés microbiennes libres et celles liées aux particules dans divers habitats marins. Cela reflète les contrastes dans les modes de vie des micro-organismes. La plastisphère offre un environnement spécifique aux communautés fongiques. Bien que des différences significatives aient été observées dans les communautés fongiques associées à des plastiques par rapport à celles de surfaces naturelles telles que les sédiments ou le bois, aucune distinction n'a été constatée par rapport à des surfaces inertes comme le verre dans les études comprenant ce type de contrôle (Oberbeckmann *et al.* 2016). Cependant, plusieurs OTUs étaient discriminantes entre les surfaces en verre ou en plastique. Ces observations laissent entrevoir que les propriétés physico-chimiques des polymères synthétiques et celles du bois influent sur la composition des communautés fongiques, comme observé chez les communautés bactériennes (Hoellein *et al.* 2014). Les champignons sont en effet reconnus pour leur grande capacité à dégrader ce type de matière organique via un arsenal enzymatique constitué d'exo-enzymes multifonctionnelles comme les laccases, peroxydases, cutinases, etc. (Okal *et al.* 2023; Srikanth *et al.* 2022; Temporiti *et al.* 2022). En ce qui concerne les assemblages bactériens, les différences entre les matières organiques et plastique amènent à deux mécanismes de sélection des taxons par le plastique : la disponibilité d'une surface dure et la source de carbone organique dans les polymères plastiques (McCormick *et al.* 2016). Ainsi, le plastique affecte à la fois les compositions des communautés procaryotes et microeucaryotes. L'absence de différence significative dans l'étude de Oberbeckman *et al.* (2016) conduit aux questions abordées dans les parties suivantes, selon lesquelles la localisation, puis le temps apparaissent comme les principaux facteurs structurant les communautés microbiennes, avant celui du type de plastique ou de matériau utilisé (Miao *et al.* 2023; Oberbeckmann & Labrenz 2020; Wright *et al.* 2021b).

### *Biogéographie de la plastisphère fongique marine*

Jusqu'à présent, la biogéographie de la plastisphère, en particulier celle des communautés fongiques, reste relativement peu explorée, et les facteurs influençant ces communautés microbiennes font l'objet de débats. Plusieurs études ont examiné la plastisphère fongique dans divers habitats géographiques, notamment dans le gyre subtropical de l'Atlantique Nord (Debroas *et al.* 2017b; Zettler *et al.* 2013), en mer du Nord (De Tender *et al.* 2017; Kirstein *et al.*

2018), dans l'océan Pacifique Est (Yang *et al.* 2022) et dans l'Océan Atlantique au sud du Brésil (Sérvulo *et al.* 2023), ainsi que dans divers biotopes, tels que trois stations de la mer du Nord (Oberbeckmann *et al.* 2016), différents systèmes aquatiques du nord-est de l'Allemagne (comprenant la mer Baltique côtière, la rivière Warnow et une station d'épuration des eaux usées) (Kettner *et al.* 2017), un port et les eaux côtières de la mer du Nord belge (De Tender *et al.* 2017), les eaux de surface de l'Atlantique Sud-Ouest et de la péninsule Antarctique (Lacerda *et al.* 2020) et trois zones de la mer Tyrrhénienne en Toscane (Florio Furno *et al.* 2022). Parmi ces études, deux hypothèses principales émergent. La première suppose que les communautés microbiennes collectées sur les plastiques devraient être homogènes, étant étroitement liées à la composition chimique des matériaux plastiques. La seconde hypothèse soutient que les communautés microbiennes sont principalement influencées par les facteurs environnementaux, avec une influence secondaire de la composition chimique des polymères. Dans notre propre étude (Philippe *et al.* 2023), les communautés fongiques associées au même type de polymère, le PVC, ont montré des différences significatives entre les sites d'échantillonnage, soulignant ainsi l'impact de la géographie et des facteurs environnementaux associés sur la structure de ces communautés. Ces résultats convergent avec d'autres études portant sur les communautés bactériennes (Amaral-Zettler *et al.* 2015) ou micro-eucaryotes/fongiques (De Tender *et al.* 2017; Kettner *et al.* 2019b; Oberbeckmann *et al.* 2014, 2016), mettant en évidence la géographie comme principal facteur structurant, y compris à travers des variations saisonnières (Sérvulo *et al.* 2023). L'importance de la température dans notre étude (Philippe *et al.* 2023), pour la plastisphère fongique, comme mis en évidence dans d'autres études pour la plastisphère bactérienne en milieu marin (Dussud *et al.* 2018) ou dans le sol (Sun *et al.* 2022), souligne l'impact de la localisation et des facteurs environnementaux associés sur le potentiel de colonisation des plastiques par les communautés microbiennes. Il est toutefois important de noter que certaines études n'ont pas observé de différences géographiques distinctes entre les communautés microbiennes (Lacerda *et al.* 2020). Néanmoins, dans cette dernière étude, les auteurs ont travaillé sur des plastiques collectés dans l'environnement et non immergés, c'est-à-dire des analyses sur des polymères avec une « histoire » inconnue, rendant difficile toute comparaison fine.



## *Une plastisphère fongique marine impactée par le temps d'immersion*

Les résultats générés dans le cadre de cette thèse ont également mis en évidence une influence notable du temps d'immersion. Parmi les 45 études répertoriées sur la plastisphère (**Annexe 1**), 20 ont analysé les communautés microbiennes selon des séries temporelles, avec seulement 2 études se focalisant spécifiquement sur les communautés fongiques (De Tender *et al.* 2017; Sérvulo *et al.* 2023). Dans notre première étude (Philippe *et al.* 2023), nous avons observé des différences significatives entre les jours d'immersion, mais également une divergence marquée dans la structuration des communautés fongiques entre les premiers jours (1 à 30 jours) et les derniers (75 à 365 jours). Cette tendance a été confirmée dans notre seconde étude (Philippe *et al.* *In prep*), dans laquelle, malgré l'absence de différences significatives entre les trois durées d'immersion, une différence significative dans la structure des communautés a été observée entre T1 (3 semaines d'immersion) et T3 (9 semaines d'immersion). Une dynamique de colonisation des communautés fongiques a ainsi été identifiée entre 30 et 90 jours. Dans une étude menée par Sérvulo *et al.* (2023), des plaques de PE et de PP ont été immergées dans des eaux peu profondes et échantillonnées après 30 et 90 jours pendant chaque saison. Aucune différence significative en termes de richesse en OTU n'a été observée entre ces périodes, mais des variations significatives dans la composition des plastisphères ont été constatées. De Tender *et al.* (2017) ont exposé des échantillons de PE dans deux sites marins différents pendant près d'un an. La durée d'exposition a significativement affecté la formation du biofilm, illustrant la variabilité temporelle des communautés fongiques. Les recherches sur les bactéries indiquent des changements rapides dans leurs communautés au cours des premiers stades de colonisation, conduisant à la convergence vers un biofilm mature en quelques jours (Odobel *et al.* 2021). Cependant, l'établissement des communautés de micro-eucaryotes, en particulier fongiques, semble nécessiter un temps plus long. La formation de ces biofilms est étroitement liée à l'influence continue des paramètres environnementaux et peut potentiellement ne jamais aboutir à une plastisphère mature. De plus, l'exposition prolongée des plastiques dans l'eau de mer peut altérer leurs propriétés physico-chimiques, entraînant des changements dans la composition des communautés microbiennes, et de fait complexifiant la dynamique de colonisation.

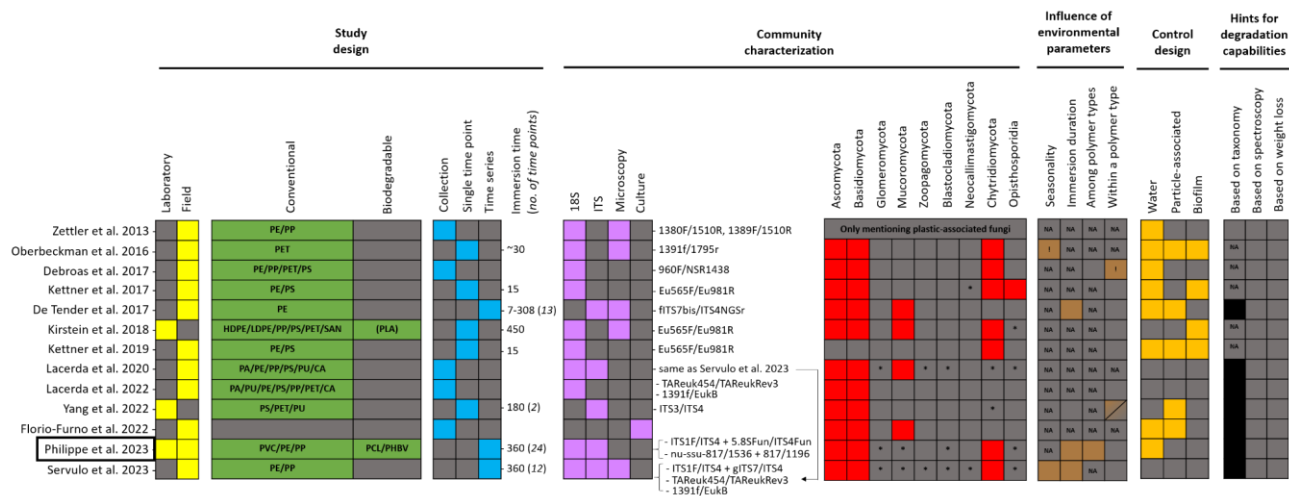
### *Influence du type de polymère (conventionnels vs. biodégradables)*

Peu d'études ont engagé une comparaison des communautés microbiennes présentes sur les polymères conventionnels par rapport aux polymères biodégradables. Nos résultats révèlent une différence entre les communautés fongiques associées aux polymères conventionnels par rapport à celles associées aux polymères biodégradables, non significative en alpha-diversité, mais significative en beta-diversité. De moindres richesse et diversité sont néanmoins observables sur les plastiques biodégradables par rapport à leurs homologues conventionnels, une constatation partagée par Li et collaborateurs (2023). Dans ladite étude, une dissimilarité marquée dans la structure des communautés fongiques associées aux plastiques biodégradables est notée en beta-diversité, corroborant les conclusions de nos études, par approche moléculaire (Philippe *et al.* 2023) ou culturale (Philippe *et al. in prep*). Sur les plastiques biodégradables, (Dussud *et al.* 2018) ont mis en évidence une colonisation plus élevée par des bactéries actives et spécifiques par rapport aux polymères non biodégradables. Les activités extracellulaires et intracellulaires des enzymes semblent montrer des activités plus élevées sur les matériaux biodégradables que sur les matériaux non biodégradables (Odobel *et al.* 2021). Récemment, Yang *et al.* (2023) ont étudié les diversités taxonomique et fonctionnelle de communautés bactériennes associées à des polymères conventionnels et biodégradables en milieu lacustre. De cette étude, il ressort une abondance relative plus faible sur polymères biodégradables par rapport aux polymères conventionnels mais des fonctions inférées plus importantes sur polymères biodégradables que conventionnels, confirmant une étude similaire également réalisée en milieu lacustre (Miao *et al.* 2023). Les résultats générés dans le cadre de cette thèse sont en phase avec ces études sur les communautés bactériennes, en termes d'abondance relative. Il restera à étudier les fonctions potentielles de dégradation chez les communautés fongiques entre polymères biodégradables et conventionnels afin de corroborer ou non les travaux sur les communautés bactériennes.

### *Diversité fongique associée aux plastiques*

Dans nos deux premières études (Philippe *et al.* 2023, Philippe *et al. in prep.*), les ASVs prédominants étaient attribués au phylum Ascomycota, suivi par les phyla Basidiomycota et

Chytridiomycota, en cohérence avec la diversité fongique marine (Burgaud *et al.* 2022). Ces résultats corroborent les conclusions d'études antérieures dans lesquelles ces phyla ont également été identifiés comme prépondérants. Par ailleurs, une recherche portant sur la diversité mondiale et la géographie des champignons marins planctoniques a révélé une prédominance similaire de ces trois phyla dans le mycobiome planctonique marin mondial (Hassett *et al.* 2020), alors que les écosystèmes terrestres sont généralement dominés par les Ascomycota et les Basidiomycota (Tedersoo *et al.* 2014). Nous avons également identifié d'autres taxons affiliés aux phylums Blastocladiomycota, Glomeromycota, Mucoromycota et Opisthosporidia, comme rapporté dans d'autres recherches. Notamment, avec Lacerda *et al.* (2020), nous avons été les premiers à détecter la présence de taxons affiliés au phylum des Blastocladiomycota sur une matrice plastique via nos amorces ITS, bien que cette lignée fongique basale, connue pour ses capacités de dégradation de polymères naturels complexes (Lange *et al.* 2019), ait déjà été signalé dans l'environnement marin (Jones *et al.* 2015; Sen *et al.* 2022).



**Figure 1. Revue de littérature de 13 études, incluant notre première étude Philippe et al. 2023 analysant la plastisphère sur les débris plastiques marins en mettant l'accent sur les communautés fongiques (mise à jour à partir de Wright et al. (2020)).**

La première colonne indique si l'étude a été menée en laboratoire ou sur le terrain (jaune), les différents types de plastiques, conventionnels ou biodégradables (vert), et si les plastiques ont été collectés naturellement dans la mer (collecte), ou introduits par les chercheurs et collectés soit à un seul point dans le temps, soit à une série de points dans le temps (bleu). Les chiffres indiquent les premier et dernier jours d'incubation, les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de points inclus dans la série temporelle. La caractérisation de la communauté fongique indique si la plastisphère a été analysée par séquençage à haut débit de l'ARNr 18S ou ITS (ainsi que les amorces utilisées) ou par une approche basée sur la culture, et si la microscopie a été utilisée pour visualiser le biofilm (violet) et les différents phyla fongiques détectés (rouge), l'astérisque (\*) indique les détections de faible niveau. L'influence des paramètres environnementaux indique si la saisonnalité et la durée d'immersion sont des variables significatives ayant un impact sur les communautés fongiques, et si des différences ont été observées entre les polymères plastiques (différences entre les polymères conventionnels et biodégradables) et/ou au sein d'un type de polymère (différences entre les différents polymères d'une catégorie similaire, conventionnels ou biodégradables) (marron). Les contrôles (orange) mettent en évidence les études qui comparent la Plastisphère avec la communauté microbienne de l'eau de mer environnante ou avec des matières organiques particulières (> 3 µm), ou des biofilms qui se développent sur des surfaces inertes (par exemple, verre, bois, etc.). La dernière colonne (noir) indique si des preuves de dégradation mises en évidence ont été basées soit sur la taxonomie, soit sur la spectrométrie ou d'après une perte de masse. NA signifie "Non analysé". '!' signifie qu'une influence a été observée.

Plusieurs études portant sur la diversité eucaryote et fongique sur les surfaces plastiques ont utilisé le gène de l'ARN ribosomal (ARNr) 18S et ITS comme marqueurs génétiques, associé à un séquençage à haut débit, afin de caractériser les communautés présentes. Sur l'ensemble des 12 études examinées utilisant le metabarcoding pour caractériser les communautés fongiques associées aux plastiques (**Figure 1**), sept études ont utilisé un seul marqueur génétique, le 18S et deux ont utilisé le marqueur génétique ITS. Les trois études restantes ont utilisé un couplage entre les marqueurs génétiques 18S et ITS. Le plus grand nombre de phylas fongiques a été détecté par Lacerda *et al.* (2020), Sérvulo *et al.* (2023) et Philippe *et al.* 2023. Lacerda *et al.* (2020) et Sérvulo *et al.* (2023) ont réalisé une PCR semi-nichée, en utilisant les amorces ITS1F/ITS4 puis gITS7 et ITS4, ciblant la région ITS2 en metabarcoding. D'après une revue portant sur les champignons marins planctoniques (Peng *et al.* 2024), les amorces ITS1F/ITS2, ciblant l'ITS1, détectent moins de phylas fongiques que les amorces ciblant l'ITS2. Par exemple, des biais à l'encontre de phylas fongiques spécifiques existent, notamment les Mucoromycota, Chytridiomycota et Opisthosporidia. Dans notre étude, nous avons ciblé la région ITS2 par PCR nichée en utilisant les amorces ITS1F/ITS4 puis 5,8S-Fun et ITS4-Fun. La sélection de ces amorces dans notre étude s'est basée sur les travaux de (Taylor *et al.* 2016a) qui ont montré un nombre de lectures attendues et observées fortement corrélées ( $r = 0,94$  à  $0,97$ ) dans deux communautés fictives, même si plusieurs taxons étaient systématiquement sur ou sous-représentés, probablement en raison de la variation du nombre de copies du gène de l'ARNr. Les plus faibles nombres de phylas fongiques ont été détectés dans les études utilisant les marqueurs génétiques 18S (**Figure 1**), cependant, quelques-unes de ces études ne ciblaient pas spécifiquement les communautés micro-eucaryotes. L'amplification des régions hypervariables V4 de l'ARNr 18S a également été réalisée dans Philippe *et al.* (2023) et Philippe *et al. in prep.* Un nombre moins important de séquences a été généré à l'aide des marqueurs génétiques 18S par rapport aux marqueurs ITS2 dans Philippe *et al.* (2023). De plus, le phylum Cryptomycota, identifié lors de notre analyse ITS2, était absent de notre analyse 18S. Cependant, les mêmes faits marquants ont été mis en évidence avec l'un ou l'autre marqueur. D'après (Peng *et al.* 2024), les amorces d'ARNr 18S conçues pour la spécificité fongique diffèrent fortement dans leur taux de couverture des lignées fongiques supérieures et basales, ainsi que dans leur tendance à amplifier des séquences eucaryotes non fongiques, comme observé dans nos études où ces séquences ont été exclues. Lacerda *et al.* (2020) ont

également adopté une approche similaire en utilisant trois marqueurs et en amplifiant les régions hypervariables V4 et V9 de l'ARNr 18S ainsi que la région ITS2. Bien que nos études concordent sur les limitations des amorces 18S en termes de détection et de résolution taxonomique des champignons, des différences ont été observées dans la capacité de résolution entre les marqueurs, certains taxons montrant des similitudes avec les isolats terrestres en utilisant ITS2 mais avec les isolats marins en utilisant 18S. Chaque paire d'amorces utilisée comporte son propre ensemble d'avantages et d'inconvénients (Peng *et al.* 2024). L'ITS, largement utilisé comme marqueur de metabarcoding de l'ADN pour caractériser la diversité et la composition des communautés fongiques (Blaalid *et al.* 2013), de préférence l'ITS2, permet donc une meilleure résolution taxonomique et fonctionnelle, et une plus grande richesse de champignons par rapport aux marqueurs génétiques situés dans les gènes de la petite sous-unité ribosomique (SSU) et de la grande sous-unité (LSU) (Tedersoo *et al.* 2015), comme observé dans Philippe *et al.* (2023). Aussi, les fragments de la gamme de taille ITS1 et ITS2 peuvent être facilement séquencés sur la plateforme Illumina MiSeq alors que l'amplification de l'ITS complet demande un coût plus important (Schmidt *et al.* 2013). En outre, d'autres biais peuvent affecter l'étude des communautés fongiques, tels que ceux liés à la méthode d'extraction de l'ADN fongique ou à la disponibilité des séquences dans les bases de données. Malgré des mises à jour récentes, la base de données UNITE recommandée pour la caractérisation des communautés fongiques, présente une sous-représentation des champignons marins (Wang *et al.* 2023b). C'est pourquoi de nombreux taxons fongiques restent non identifiés lors de nos études. Par conséquent, des études supplémentaires sont nécessaires pour décrire davantage la diversité fongique marine et alimenter les bases de données associées.

### *Approches associées et complémentaires au metabarcoding*

Suite à l'analyse de jeux de données de metabarcoding, qui s'avère être une approche relativement simple pour réaliser un premier inventaire de diversité d'un écosystème en explorant les communautés de micro-organismes viables mais non cultivables, il serait intéressant de passer à une échelle supérieure via des analyses métagénomique et métatranscriptomique afin de décrire la diversité fonctionnelle des communautés fongiques associées aux plastiques immergés en milieu marin, par comparaison avec l'eau de mer

environnementale. L'approche metabarcoding de l'ITS2 et les analyses du métatranscriptome permettent une description taxonomique plus fiable de la diversité des mycobiomes (Wang *et al.* 2023b) ainsi que de leur rôle écologique dans l'écosystème étudié. La formation d'un biofilm représente un changement majeur dans le mode de vie d'un micro-organisme par rapport à sa forme planctonique ou mobile. Pendant cette transition, certains ensembles de gènes sont impliqués, permettant aux cellules individuelles d'adhérer les unes aux autres et de former une structure semblable à un tissu, ainsi que des canaux pour faciliter la circulation des nutriments entre les cellules (Amaral-Zettler *et al.* 2020). Chez *Aspergillus fumigatus* ou *Fusarium graminearum*, connues pour adhérer au PS, la matrice des biofilms est principalement composée de polyols, de protéines, de lipides et d'exopolysaccharides, notamment les  $\alpha$ -glucanes, le galactomannane et le galactosaminogalactane (GAG). Sans ce dernier composant, *Aspergillus fumigatus* est incapable de former des biofilms. Aussi, dans les biofilms fongiques, les polysaccharides offrent une protection contre le dessèchement et la perte de nutriments à mesure que le biofilm se développe (Shay *et al.* 2022). De nombreux facteurs régulateurs impliqués dans la formation du biofilm d'*A. fumigatus* ont été rapportés (Liu *et al.* 2022b). Les champignons ont également la capacité à produire des enzymes hydrolytiques et à coloniser des substrats lignocellulosiques. Par exemple, les cutinases et les cellulases sont des enzymes majeures impliquées respectivement dans la dégradation de la lignocellulose mais également du plastique (Daly *et al.* 2021). De plus, des études ont également démontré la capacité des microplastiques à adsorber des polluants environnementaux à leur surface (Amelia *et al.* 2021). Il est plausible que certaines voies métaboliques soient amplifiées sur les plastiques, telles que celles associées à la « biodégradation et au métabolisme des xénobiotiques », impliquées dans la dégradation des substrats artificiels ou des polluants, par rapport aux eaux environnantes (Bryant *et al.* 2016; Debroas *et al.* 2017b). La libération d'additifs lixiviés peut également impliquer des fonctions écologiques impliquées dans la dégradation de ces derniers. En revanche, d'autres métabolismes pourraient être moins représentés, comme ceux impliqués dans la motilité cellulaire (concernant de fait les champignons produisant des zoospores), cohérente avec un mode de vie sessile, comme observé dans des études sur les communautés microbiennes associées aux plastiques (Bryant *et al.* 2016; Debroas *et al.* 2017b). Nous pourrions donc anticiper des différences fonctionnelles potentielles entre les champignons à la surface des plastiques et ceux présents dans les eaux environnantes en déduisant un mode vie associé aux

plastiques. Il serait alors possible d'évaluer le potentiel *in situ* de biodégradation d'un polymère. La plastisphère est composée de producteurs primaires, d'hétérotrophes, de symbiotes et de prédateurs, suggérant une intercommunication entre ces organismes dans la plastisphère. Les rôles trophiques potentiels des micro-organismes fongiques (chimio-hétérotrophes) dans la plastisphère comprennent la décomposition, le parasitisme, la prédation, la symbiose et la pathogénèse (Amaral-Zettler *et al.* 2020), suggérant également des fonctions liées à la production de métabolites secondaires, dont l'expression pourrait également être recherchée dans les jeux de données de métagénomique et métatranscriptomique.

Afin d'exploiter au maximum les informations issues des analyses de metabarcoding, Il serait également pertinent de construire des réseaux de co-occurrence afin de mettre en évidence les ASVs significativement associés aux polymères et semblant en interaction (de par leur co-occurrence). Les espèces, représentées par ces ASVs, impliquées dans la dégradation du plastique devraient ainsi être présentes de manière significative à la surface du plastique et interagir, positivement ou négativement, étroitement entre elles, permettant de révéler des modes de vies spécifiques. En outre, les jeux de données bactériens, disponibles grâce à différentes collaborations, pourraient également être exploités pour établir des réseaux de co-occurrence de taxons procaryotes et fongiques, offrant ainsi une meilleure compréhension des interactions putatives entre bactéries et champignons. Il a été observé par Kettner *et al.* (2019) que les réseaux de cooccurrence sur PE, PS et bois se formaient selon le lieu d'échantillonnage, soulignant ainsi l'influence des facteurs environnementaux sur les biofilms microbiens et leurs interactions potentielles. Ces analyses supplémentaires viendraient donc renforcer nos conclusions. Une approche supplémentaire pourrait être d'utiliser ces réseaux de co-occurrence comme guides pour optimiser des approches de criblage. En effet, si ces réseaux mettent en évidence des interactions putatives positives entre des ASVs bactériens ou fongiques ou entre les deux pour lesquels une approche culturale a permis d'avoir des représentants, alors il apparaît pertinent de procéder à des tests de criblage en les associant dans un objectif d'optimisation de la dégradation des polymères. Cette approche culturale guidée par les données moléculaires permettrait un criblage ciblé par comparaison à des approches de criblage massif.



De la synthèse bibliographique réalisée dans le cadre de cette thèse, il apparaît que les études sur les communautés fongiques associées aux plastiques présentent un manque de données en séries temporelles, justifiant ainsi la nécessité de poursuivre le metabarcoding pour ces communautés. Il est bien établi que la majeure partie du plastique présente dans nos océans provient de sources terrestres, avec environ 70 à 80 % de plastique transporté de la terre à la mer via les rivières ou les côtes (Lebreton *et al.* 2018; Li *et al.* 2016). Afin de mieux comprendre la dynamique de colonisation des communautés microbiennes, notamment des communautés fongiques qui ont été peu étudiées jusqu'à présent, il serait judicieux de définir un protocole expérimental complet le long d'un gradient de salinité, depuis différents sites situés le long des rivières et des fleuves, de points à salinité nulle vers les estuaires, incluant des polymères plastiques majeurs conventionnels et biodégradables. Une telle étude devrait s'étendre sur une période minimale d'un an afin de pouvoir observer les éventuels changements dans les profils des communautés microbiennes au fil du temps. Il serait également crucial de mesurer les paramètres physico-chimiques tout au long de l'étude. Chaque type de plastique, dont la composition est connue, serait collecté en double à des intervalles définis, puis analysé à la fois par metabarcoding et par approche culture-dépendante. Parallèlement, une partie des plastiques pourrait être déplacée au fur et à mesure du temps vers l'estuaire pour évaluer l'impact du gradient de salinité sur la résilience des communautés microbiennes. Les études sur les systèmes d'eau douce sont encore rares (Harrison *et al.* 2018). Il serait également intéressant d'étudier davantage la biogéographie de la plastisphère sur plusieurs continents. La majorité des échantillons analysés sont d'origine européenne, avec seulement quelques études portant sur des échantillons provenant d'autres continents (Asie, Amérique, Afrique) alors que les régions les plus polluées sont les régions polaires et l'hémisphère sud, où se situent trois des cinq principales zones d'accumulation de plastique dans les océans (Amaral-Zettler *et al.* 2020).

Ce plan expérimental offrirait également une opportunité de comparer les communautés microbiennes entre différents sites géographiques. Il serait également intéressant d'étudier les polluants adsorbés par les plastiques et leur éventuel impact sur ces communautés microbiennes. Également, une approche innovante pourrait être de procéder au marquage d'un polymère à l'aide d'un isotope stable ( $^{13}\text{C}$ ), de l'incuber avec une communauté fongique et de procéder à une analyse métagénomique ciblant les acides nucléiques marqués, afin de

mettre en lumière les liens entre la diversité et la fonction des communautés fongiques.-Enfin, la microscopie confocale tridimensionnelle d'hybridation *in situ* par fluorescence des membres de la communauté marqués pourrait aider à discerner les micro-organismes qui sont spécifiquement attachés à la surface plastique, par rapport à ceux en interaction avec d'autres membres du biofilm (par exemple, les opportunistes) (Oberbeckmann *et al.* 2016).

## Collection d'isolats fongiques pertinents d'un point de vue environnemental

Un des objectifs était de procéder à l'analyse de la plastisphère fongique par approche culturale afin de pouvoir procéder par la suite à un criblage des capacités d'utilisation de polymères comme source de carbone. A cette fin, une collaboration a été initiée avec le CEDRE dans le cadre du projet OceanWise « *Évaluation et comparaison des impacts potentiels des polystyrènes expansés et extrudés et de leurs alternatives sur l'environnement marin* ». Pour isoler les taxons fongiques et bactériens présents sur les échantillons de polystyrène (PS) et des alternatives biodégradables collectés dans la marina de Brest, nous avons sélectionné quatre milieux de culture différents (Sabouraud, Czapek, Martin, PDA/PDB), présentant diverses conditions (avec glucose, PE, PS, PET, PHBV, PCL, ou PVC), avec ou sans antibiotiques, et à deux températures différentes pour accroître la sensibilité de l'approche. L'utilisation de milieux sélectifs est cruciale pour l'isolement, l'identification et le dénombrement des taxons fongiques provenant de l'environnement marin. De plus, nous avons choisi de compléter ces milieux avec les plastiques cités en raison de leur abondance et de leur accumulation comme déchets plastiques dans les environnements marins.

Le milieu Sabouraud, traditionnellement utilisé, a été sélectionné en premier lieu pour son efficacité dans l'isolement et la culture des champignons, permettant la distinction et l'identification de différentes espèces (Acharya & Hare 2022). Ensuite, le milieu Czapek, également couramment employé, a été choisi pour optimiser la croissance fongique, en particulier des levures (Bragulat *et al.* 2004). Le milieu Martin Rose Agar a été retenu pour ses propriétés sélectives, limitant le diamètre des colonies des champignons à croissance rapide et permettant de fait d'isoler des micro-organismes fongiques à croissance plus lente. Enfin, le milieu PDA est couramment utilisé en mycologie environnementale. Notre étude s'est

concentrée exclusivement sur les taxons fongiques isolés dans ces différents milieux avec antibiotiques, exploitant ainsi la diversité des milieux de culture pour une meilleure caractérisation des communautés fongiques et de leur diversité. Les milieux de culture les plus appropriés à nos isolats étaient le Sabouraud et le Martin Rose Agar. Le nombre élevé d'isolats fongiques dénombrés et isolés était certainement dû à la diversité des procédures d'isolement, chaque milieu répondant à des exigences de croissance spécifiques.

En raison du nombre d'isolats obtenus (n=2570 isolats) et du caractère chronophage de la constitution de cette collection, une identification complète de la collection d'isolats n'a pu être effectuée et seules quelques isolats ont été identifiés. De fait, peu de comparaisons ont pu être réalisées avec les résultats issues du metabarcoding. À notre connaissance, une seule étude (Florio Furno *et al.* 2022) a également exploré le mycobiote cultivable des sédiments, des sédiments aqueux et des microplastiques associés en mer Tyrrhénienne en Toscane. Ces auteurs ont isolé un grand nombre d'organismes (1526 isolats) représentant 315 taxons. Cependant, les résultats de Florio Furno *et al.* (2022) diffèrent des nôtres, ces derniers ayant identifié seulement 7 taxons exclusifs aux microplastiques contre 180 dans les sédiments et 85 dans les sédiments aqueux, tandis que notre étude a permis l'isolement de 2556 isolats fongiques à partir de nos polymères plastiques (PHBH, 273 isolats; PLA, 458 isolats; PLA/PBAT, 370 isolats; PSE-CP, 477 isolats; PSE-PI, 546 isolats; PSX-BA, 422 isolats) équivalent à 172, 278, 337, 498, 145 et 441 isolats sur milieux supplémentés en PS, PVC, PET, PE, PHBV et PCL contre 699 sur milieux supplémentés en glucose. Dans la mer du Nord (De Tender *et al.* 2015), les débris plastiques, les sédiments et l'eau présentaient des communautés distinctes mais des niveaux de richesse plus élevés étaient observés dans les sédiments par rapport à l'eau de mer et les débris plastiques, comme observé par Florio Furno *et al.* (2022). Ces résultats, contraires aux résultats obtenus à partir de microplastiques collectés dans les eaux de surface peuvent potentiellement s'expliquer par l'exposition à la lumière, favorisant davantage l'attachement de communautés phototrophes et la photodégradation des polymères facilitant l'installation de communautés microbiennes (Sebastian *et al.* 2023; Wright *et al.* 2021a). De plus, la quantité totale de biofilms diminue avec la profondeur de l'eau (Tu *et al.* 2020).

## *Criblage des capacités d'utilisation du plastique comme source de carbone*

Les études fongiques sur la biodégradation des macro- et micro-plastiques révèlent la capacité de champignons à utiliser ces matériaux comme unique source de carbone et d'énergie (Sanchez, 2020). et plus efficacement que leurs homologues bactériens (Muhonja *et al.* 2018). Les processus de biodégradation des plastiques peuvent être évalués par la croissance microbienne et/ou par des modifications du polymère lui-même (Sanchez, 2020). À ce jour, la méthode la plus répandue pour évaluer la biodégradation des plastiques repose sur la mesure gravimétrique de la perte de poids/masse du polymère au cours d'une période définie, durant laquelle le plastique est exposé à une matrice environnementale ou à des cultures microbiennes (Zeghal, 2021). Parmi les 115 études répertoriées (**Annexe 2**), 74 ont adopté cette approche, bien que celle-ci puisse nécessiter un temps long pour obtenir un résultat (Gao *et al.* 2022b). Deux autres techniques couramment utilisées sont l'observation au microscope électronique à balayage (75 études) et des tests de dégradation des polymères sur plaque de gélose (25 études). Cependant, le milieu gélosé constitue lui-même une source de carbone (agar), ce qui ne permet pas de prouver à lui seul la dégradation microbienne du plastique. Afin d'évaluer le potentiel de biodégradation des champignons, plusieurs études combinent différentes techniques pour évaluer la dégradation. Ces techniques doivent être comparables pour permettre la comparaison entre différents isolats et polymères. Ainsi, notre criblage combine trois approches différentes mais complémentaires et comparables pour éviter les faux-positifs : une approche basée sur la culture en milieu gélosé supplémenté en polymères, une approche basée sur la néphélométrie laser et une approche basée sur l'OcelloScope. L'utilisation du néphélomètre permet de réaliser des suivis de croissance à moyen débit par mesure fondée sur l'intensité d'un rayonnement laser diffracté par des particules en suspension (cellules unicellulaires, filamenteuses) en temps réel. Dans notre étude, l'OcelloScope nous a permis de capturer des images et de fait de visualiser la croissance de nos isolats. Ces approches innovantes permettent de cribler un grand nombre d'isolats dans un laps de temps réduit. À notre connaissance, il s'agit de la première étude évaluant les capacités potentielles de dégradation des communautés fongiques sur différentes matrices plastiques par ces deux approches à moyen débit : le néphélomètre laser et l'OcelloScope. De plus, ces trois techniques présentent des paramètres expérimentaux

distincts. L'une d'elles a été menée en phase solide, avec une concentration de particules de plastique de 10 %, tandis que les deux autres ont été menées en phase liquide, avec des concentrations de particules de plastique variant de 0,039 à 2,5 %. Les approches en phase liquide nécessitent en effet une quantité de milieu nettement inférieure (200 µL) à celle en phase solide (20 mL). Par conséquent, la concentration en particules de plastique doit être adaptée. De plus, en raison de la détection sensible des particules par le néphélomètre laser, il est nécessaire ne pas saturer le milieu afin de pouvoir générer des courbes de croissance exploitables. Notre objectif était de mettre en évidence les isolats présentant une forte activité de dégradation du plastique, susceptibles de servir de source de carbone, dans des conditions aussi bien liquides que solides, malgré la différence de concentration en particules de plastique. Ceci étant dit, nous reconnaissons que cette approche pourrait négliger certains isolats potentiellement intéressants qui pourraient se distinguer dans l'une ou l'autre condition.

Étant donné le nombre conséquent d'isolats (2570), nous avons procédé à un échantillonnage aléatoire et simple afin de travailler sur une collection de 300 isolats représentatifs de la collection initiale. Un milieu minimal dépourvu de source de carbone, le milieu Bushnell Haas (BH), couramment utilisé dans des études de criblage de micro-organismes hydrocarbonoclastes, a été privilégié, à la fois dans les approches solide et liquide. Pour chaque approche, deux contrôles ont été effectués pour garantir la validité des résultats : un contrôle "positif", milieu BH supplémenté en glucose comme source de carbone unique (1,5%), et un contrôle "négatif" dépourvu de toute source de carbone (*i.e.* BH seul), mettant en évidence une éventuelle utilisation des réserves métaboliques, de la nécromasse ou de l'agar, dans l'approche en milieu solide. En outre, alors que la plupart des études ont examiné les capacités de dégradation des champignons sur un seul type de plastique, nous avons choisi de tester six plastiques différents.

Pour l'analyse des résultats obtenus à travers les trois approches, nous avons adopté une stratégie analytique particulièrement stringente en appliquant des seuils ou des filtres pour sélectionner les isolats les plus prometteurs dans chaque condition supplémentée en plastique, et ce que ce soit en milieu solide ou liquide, en vue d'applications potentielles en biotechnologie. Ainsi, sur les 300 isolats criblés, dans les conditions de sélection mises en

place, seulement 6 ont été mis en évidence par la combinaison de ces 3 approches : 4 isolats avec un spectre d'activité étroit, restreint à un seul des polymères testés, un isolat présentant des capacités potentielles de dégradation sur deux plastiques différents et un autre isolat présentant des capacités potentielles de dégradation sur trois plastiques différents. Ces résultats sont en accord avec une étude récente ayant isolé des champignons à partir de déchets de PET sur les côtes coréennes, identifiant ainsi 87 espèces présentant divers degrés de capacité de dégradation du PCL en mesurant les diamètres des zones claires formées sur de la gélose de PCL (Kim *et al.* 2022) en triplicat et moyennés comme dans notre étude (Philippe *et al. in prep*). Parmi celles-ci, seulement cinq espèces ont montré une forte capacité de dégradation du PCL. Il convient de noter que les champignons présentant les capacités de dégradation les plus élevées étaient parmi les moins abondants. De plus, comme l'ont constaté Kim *et al.* (2022), de nombreux champignons ont également montré une faible capacité de dégradation sur différents plastiques, ce qui suggère que différents taxons fongiques jouent des rôles distincts dans la décomposition des déchets plastiques marins. La dégradation des polymères peut ainsi être initiée par des champignons à fort potentiel, tandis que les produits de dégradation peuvent être ensuite dégradés par des champignons à potentiel de dégradation plus faible, suggérant l'intérêt de travaux portant sur des consortias microbiens (cf. "Synergie entre les isolats les plus prometteurs").

Dans le cadre de notre étude, les polymères étudiés ont été sélectionnés sous forme de poudre ou de microbilles vierges. Toutefois, dans leur environnement naturel, les plastiques rejetés dans les océans subissent généralement une dégradation abiotique, accélérant leur fragmentation sous l'influence de divers facteurs tels que l'exposition aux rayons ultraviolets, les fluctuations de température, la force de cisaillement induite par les vagues et les courants, ainsi que l'abrasion causée par les particules de sédiments. De nombreuses études sur la dégradation des plastiques par des champignons ont opté pour l'utilisation des films plastiques, souvent vieillis pour mimer cette dégradation abiotique. Par conséquent, il serait donc pertinent de répéter notre approche en utilisant des films plastiques vieillis pour faciliter la dégradation biotique.

## *Identification taxonomique des isolats les plus prometteurs*

Jusqu'à présent, les champignons dégradant le plastique ont été principalement identifiés dans le phylum des Ascomycètes, auquel appartiennent des genres bien connus tels qu'*Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*. Dans une analyse portant sur les espèces fongiques présentant un potentiel de dégradation du plastique (**Annexe 2**), 43, 15 et 14 études ont identifié des espèces affiliées au genre *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* respectivement, comme dégradant un ou plusieurs polymères. Il convient de noter que de nombreuses espèces de champignons dégradant le plastique, initialement isolées dans des environnements terrestres, ont également été retrouvées dans des habitats marins. Néanmoins, il n'existe pas à ce jour d'étude ayant comparée les potentiels de dégradation de représentants terrestres et marins d'une même espèce. Parmi les isolats mis en évidence dans notre étude, quatre sur six étaient affiliés au genre *Penicillium* (C1589: *Penicillium velutinum*; C1591: *Penicillium crustosum*; C2281: *Penicillium* sp. nov. ? et C2559: *Penicillium brevicompactum*, mis en évidence sur milieu supplémenté en PE, PVC, PHBV et PCL respectivement). De nombreux isolats de ce genre ont déjà été documentés pour leur capacité à dégrader divers types de plastiques (**Annexe 2**). Parmi eux, *Penicillium pinophilum* ainsi que *Penicillium simplicissimum* Bar2 ont été cultivés dans un milieu enrichi en LDPE tandis que *Penicillium verrucosum* et *Penicillium griseofulvum* ont été observés sur du PU. *Penicillium chrysogenum* NS10 et *Penicillium oxalicum* NS4 ont été identifiés sur des polymères HDPE et LDPE. D'autres espèces telles que *Penicillium citrinum* et *Penicillium funiculosum* ont été isolés sur du PET, *Penicillium oxalicum* SS2 sur du PHB et PHBV et *Penicillium oxalicum* DSYD05-1 sur du PCL. *Penicillium simplicissimum* YK a été détecté sur du PE alors que *Penicillium variable* CCF3219 a été isolé sur du PS. En outre, de nombreux isolats ont été classés comme *Penicillium* sp. L'ensemble de ces études démontre le spectre large des potentielles capacités à utiliser des polymères chez les espèces apparentées au genre *Penicillium* et appuyant la cohérence de notre étude. Seul le PVC n'a pas été retrouvé dans cette analyse sur le genre *Penicillium*. Néanmoins, sur l'ensemble des études citées, seules 7 ont mis en évidence des potentielles capacités de dégradation de PVC par des champignons.

Les deux autres isolats identifiés dans notre étude étaient l'isolat C1666, identifié comme un *Gliomastix murorum*, et l'isolat 2218, identifié comme un *Aspergillus fumigatus*. L'isolat

C2281, *Penicillium* sp., semble présenter une originalité taxonomique sur la base de marqueurs génétiques (ITS, 99.83% ID avec *Penicillium* sp. ; 28S (partiel), 99.82% ID avec *Penicillium* sp. ; beta-tubulin, 97.77% ID avec *Penicillium* sp. et 95.94% ID avec *Penicillium koreense*, espèce la plus proche taxonomiquement). Cet isolat appartient à la section Lanata-Divaricata des *Penicillium*, une section regroupant plusieurs espèces retrouvées en milieux terrestre et aquatique.

En outre, cinq des six isolats mis en évidence ont été collectés au temps d'immersion T2 (6 semaines d'immersion) ou T3 (9 semaines d'immersion). Les généralistes peuvent être présents dans de nombreux habitats en raison de leur tolérance environnementale plus large, tandis que les spécialistes, avec une tolérance environnementale plus étroite, sont plus restreints à des habitats spécifiques, conduisant à des performances plus élevées et à un meilleur métabolisme (Yang *et al.* 2023b). Chez les bactéries, bien que les généralistes et les spécialistes des microplastiques non biodégradables aient une composition différente de celle des microplastiques biodégradables, c'est principalement le temps de colonisation qui affecte leur variation. Au fil du temps de colonisation, l'abondance relative des généralistes diminue, tandis que celle des spécialistes augmente progressivement, confortant nos résultats qui suggèrent une tendance à la spécialisation des communautés fongiques (Yang *et al.* 2023b). De plus, les activités intra- et extracellulaires des enzymes semblent augmenter au cours du temps d'immersion dans l'eau de mer pour les polymères biodégradables (Odobel *et al.* 2021).

Si une stratégie stringente basée sur les résultats des 3 approches a été réalisée, d'autres isolats ont également été considérés comme prometteurs sur la base de l'approche en condition solide, qui présente l'avantage de visualiser directement la croissance et l'aspect des thalles fongiques sur différents milieux. Deux des isolats les plus performants via cette approche en gélose étaient également affiliés au genre *Penicillium*. L'isolat C2283, sur milieu enrichi en PE, correspond à un *Penicillium chrysogenum*, espèce déjà connue pour sa capacité de biodégradation du HDPE et du LDPE comme montré par (Ojha *et al.* 2017)) via l'observation de perte de poids (analyse FE-SEM, AFM et FTIR pendant 90 jours(Ojha *et al.* 2017). L'isolat C1290, sur milieu enrichi en PET, est identifié comme un *Penicillium magnielliptisporum*, un champignon également retrouvé en abondance dans des composts de bioplastiques (PLA)



(Bandini *et al.* 2022). En raison de la mauvaise qualité des séquences obtenues, aucune analyse n'a pu être réalisée à ce stade pour l'isolat C2217, qui était pourtant l'isolat le plus prometteur sur les milieux supplémentés en PS et PHBV. Cet isolat requiert des analyses supplémentaires. L'isolat C2252, cultivé sur un milieu supplémenté en PCL, a été identifié comme étant un *Acrostalagmus luteoalbus*. Aucune référence à une éventuelle affinité de ce champignon avec les plastiques n'a été trouvée dans la littérature. Enfin, l'isolat C2218, identifié comme *Aspergillus fumigatus*, était l'isolat le plus prometteur de notre collection sur milieu supplémenté en PVC, et ce, en plus d'être commun dans les trois approches. Il est à noter que cette espèce est connue comme champignon pathogène et pour sa capacité à former des biofilms (Liu *et al.* 2022b). Chez les bactéries, des membres du genre *Vibrio* et d'autres micro-organismes potentiellement pathogènes ont également été identifiés sur les surfaces plastiques. La plupart de ces données sont basées sur des séquences moléculaires, mais elles ne prouvent pas forcément la pathogénicité. De plus, la plupart des études ont révélé des faibles quantités d'agents pathogènes. Néanmoins, la plastisphère peut favoriser l'acquisition horizontale de gènes entre différents agents pathogènes. Le plastique, flottant longtemps dans l'eau et souvent ingéré par la faune marine, peut facilement se propager comme vecteur passif (Amaral-Zettler *et al.* 2020). De plus, les changements climatiques semblent favoriser la propagation du genre *Vibrio* en mer du Nord (Vezzulli *et al.* 2012). Il est alors possible d'émettre l'hypothèse, avec toute la prudence requise, que ces changements globaux pourraient favoriser la colonisation d'agents pathogènes opportunistes sur les plastiques (Roik *et al.* 2022). Dans les sols, les microplastiques abritent également potentiellement des agents pathogènes fongiques des animaux, des végétaux mais également humains (Gkoutselis *et al.* 2021, 2024). Les Ascomycota dominant la diversité fongique marine et également la plastisphère fongique marine - ce phylum regroupant de nombreux agents pathogènes - il est possible d'émettre l'hypothèse d'un risque accru lié à la combinaison de l'augmentation de la pollution et des changements globaux.

En plus de la présence d'un isolat potentiellement pathogène, certaines espèces fongiques ont montré une cohérence entre leurs capacités de biodégradation et les polymères à partir desquels elles ont été isolées. Gkoutselis *et al.* (2024), qui ont analysé la plastisphère fongique du sol à l'aide de données métagénomiques, ont établi que l'assemblage des communautés microbiennes est principalement influencé par deux processus complémentaires : les

processus stochastiques, mettant en avant la dispersion probabiliste et la dérive écologique selon la théorie neutre, et les processus déterministes, soulignant le rôle du filtrage environnemental et des interactions biologiques conformément à la théorie des niches. Les plastiques semblent favoriser une colonisation microbienne à la fois aléatoire et opportuniste, voire potentiellement pathogène et facilitant leur persistance et leur transport, en sélectionnant des gènes codant pour des facteurs de virulence tels que la formation de biofilms, la mélanisation et l'oligotrophisme, et ce dès le début de la colonisation, mais semblent également exercer une sélection spécifique sur certains taxons microbiens, capables d'utiliser le plastique comme source de carbone (Gkoutselis *et al.* 2021). Ces champignons pathogènes opportunistes peuvent former des biofilms dans la plastisphère, résistants et persistants, et utilisent les micronutriments déposés à la surface des microplastiques (Gkoutselis *et al.* 2021). La libération d'hydrophobines, l'une des protéines de surface les plus actives connues (Cicatiello *et al.* 2020), semble jouer un rôle dans l'adhérence aux plastiques *in situ*, suggérant une colonisation par des champignons pathogènes non seulement des plastiques, mais également potentiellement de divers biomes, et ce à une échelle mondiale. Des transferts horizontaux entre espèces pathogènes et non pathogènes peuvent être facilités sur le plastique (Arias-Andres *et al.* 2018; Ma *et al.* 2010). Par conséquent, ces études renforcent l'idée selon laquelle la plastisphère est une nouvelle niche écologique pour les champignons dont les taxons généralistes, les moins adaptés, sont exclus dès les premières semaines de colonisation pour permettre la colonisation par les taxons spécialistes, comme le suggèrent nos résultats. Il a été émis l'hypothèse selon laquelle le remplacement des espèces selon des gradients environnementaux spatiaux et temporels était en partie causé par la compétition et l'isolement géographique. Les spécialistes auraient un potentiel compétitif supérieur à celui des généralistes (Yuan *et al.* 2021).

En outre, bien que non discutés dans cette étude, plusieurs isolats ont présenté des halos de dégradation sur milieux enrichis en PHBV, ce qui suggère une capacité étendue de dégradation de ce polymère. Cette observation nous a permis d'établir une collection de 19 champignons et 15 bactéries. Ces résultats nécessitent des analyses complémentaires pour validation, elles soulignent l'importance d'étudier ces isolats et leur potentiel de dégradation du PHBV. Ces résultats sont à coupler à l'originalité taxonomique potentielle de l'isolat *Penicillium* sp. C2281, capable de dégrader ce polymère. Il apparaît dans ce travail de thèse

que de nombreux isolats sont capables de dégrader le PHBV, ce qui semble cohérent étant donné ses propriétés biosourcée et biodégradable. De nombreux micro-organismes sont connus pour former des biofilms sur PHBV et que certains sont capables de produire des carboxylesterases, plus précisément des dépolymérase de type PhaZ (et notamment des extracellulaires ePhaZ) capables de dépolymériser des PHA/PHB. Néanmoins, des analyses fines sont à entreprendre, comme discuté dans les parties suivantes, afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires de dégradation de ce polymère. La détection de micro-organismes ayant ces capacités issus du milieu marin sont rares et de fait, l'analyse des micro-organismes isolés dans le cadre de cette thèse pourrait mettre en évidence de l'originalité, comme précédemment démontré par (Barbe *et al.* 2024) chez *Alteromonas plasticoclasticus* isolée de l'environnement marin.

### *Etude d'un isolat impliqué dans la dégradation du PE*

Bien que nous aurions préféré analyser l'un de nos isolats considérés comme prometteurs, en raison de contraintes de temps, nous avons opté pour l'analyse génomique de *Zalerion maritima* ATCC 34329, le seul champignon marin avec des capacités de dégradation du PE mises en évidence au début de ce travail de thèse. Cette approche nous a permis d'explorer un vaste ensemble de séquences protéiques prédites impliquées dans la synthèse d'enzymes potentiellement responsables de la dégradation de plusieurs polymères tels que le PET, le PLA, le PU, le PBAT et le PHA. Parmi ces enzymes, certaines se révèlent spécifiques, telles que des protéases et des amidases), tandis que d'autres présentent une fonctionnalité plus généraliste, (comme des hydrolases, des cutinases, des lacases et des peroxydases), étant multifonctionnelles. Ainsi, *Zalerion maritima* se démarque comme étant un organisme particulièrement polyvalent du point de vue génomique, doté d'un potentiel considérable pour la biodégradation de multiples polymères, outre le PE. Cette étude ouvre la voie vers l'analyse génomique et la comparaison d'autres isolats fongiques d'intérêt.

### *Analyse exhaustive des isolats les plus prometteurs*

Représentant un travail chronophage, nous n'avons malheureusement pas pu procéder à la dérégulation de la collection d'isolats générée. Toutefois, il serait judicieux de réaliser ce

travail, par exemple via une approche de MSP-PCR (Quemener *et al.* 2020; Rédou *et al.* 2015) qui permet de regrouper les isolats similaires, puis de procéder à l'identification d'un représentant de chaque cluster, permettant ainsi une meilleure compréhension de la richesse spécifique et de la diversité des communautés fongiques associées à chaque condition de culture. Cette approche permettrait ensuite de comparer les résultats obtenus avec nos analyses en metabarcoding plus finement.

Grâce à la combinaison de nos trois approches d'évaluation de la croissance fongique sur base de polymères plastiques, nous avons pu mettre en évidence six isolats présentant de fortes capacités de dégradation sur différents plastiques ainsi que des souches à fort potentiel sur les milieux enrichis en PHBV. Ainsi, une caractérisation approfondie de ces isolats s'avère nécessaire, en utilisant des approches plus traditionnelles de mesure de cette dégradation, telles que celles observées chez *Alternaria alternata* FB1 ou *Zalerion maritima*. Dans un premier temps, il serait utile d'obtenir des informations quantitatives (évolution de la taille de la biomasse ou des halos dans le temps), complété par des analyses FTIR qui pourraient être entreprises, comme cela a été le cas dans 57 des études répertoriées sur les champignons dégradant un ou plusieurs plastiques (**Annexe 2**). L'approche FTIR est fréquemment utilisée pour surveiller des modifications chimiques de la structure du polymère à l'aide spectres infrarouges. Il permet de détecter la perte ou la formation de groupes fonctionnels ou de liaisons chimiques suite à une dégradation microbienne. Ensuite, d'autres techniques telles que la mesure de perte de masse, les tests de production de CO<sub>2</sub>, la diffraction des rayons X (DRX), la calorimétrie différentielle à balayage (DSC), ou la spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse (GC-MS) pourraient être envisagées (**Annexe 2**) afin de confirmer la dégradation des polymères par les isolats prometteurs. Enfin, l'utilisation de polymères marqués aux isotopes stables couplée à des analyses en RMN constitue une méthode efficace pour identifier les micro-organismes actifs capables d'assimiler le substrat carboné marqué avec cet isotope (<sup>13</sup>C) à la croissance microbienne et les voies de dégradation associées. La minéralisation est ensuite confirmée par la mesure du gaz radioactif produit (<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>). Cette approche pourrait être appliquée à nos six isolats ainsi qu'à *Zalerion maritima* mais également aux isolats prometteurs sur milieu PHBV.

## *Synergie entre les isolats les plus prometteurs*

Les plastiques, tout comme la lignine ou la cellulose, peuvent être représentés comme des substrats complexes nécessitant une interaction synergique entre les populations microbiennes pour leur biodégradation efficace (Jiménez *et al.* 2022). Cette synergie entre différents micro-organismes est cruciale pour décomposer ces polymères. Récemment, la dégradation du poly(butylène adipate-co-terephthalate) (PBAT) par un consortium microbien marin a mis en évidence l'importance de la synergie et de la compartimentation des mécanismes clés, des phénomènes similaires à ceux observés dans le catabolisme de la lignine (Díaz-García *et al.* 2020; Meyer-Cifuentes *et al.* 2020), témoignant de l'importance de la syntrophie dans les processus de dégradation de composés complexes. Ainsi, il serait intéressant de mener des co-cultures visant à tester l'effet synergique entre les champignons et les bactéries dans la dégradation des plastiques. Etant donné le nombre de conditions possibles avec de nombreux isolats devant être testés sur plusieurs polymères, à des concentrations différentes, etc., une approche minimaliste est à envisager dans un premier temps. Il pourrait être intéressant d'associer différents micro-organismes sur des boîtes de Pétri (milieu BH supplémenté en polymères), sur lesquelles chaque organisme occupe un pôle de la boîte. En observant la biomasse produite ou l'extension des halos de dégradation, il serait alors possible d'évaluer si la coopération entre ces organismes conduit à une dégradation plus efficace des plastiques. Par exemple, nous disposons d'une collection d'isolats capables de dégrader du PHBV, avec des halos de dégradation spécifiques pour chaque isolat de champignons et de bactéries. Une approche de recherche de synergie consisterait, par exemple, à utiliser des boîtes de Pétri rectangulaires contenant un milieu supplémenté en PHBV et à procéder à l'inoculation de plusieurs bactéries en stries rectilignes puis à l'inoculation de champignons de la même façon en stries rectilignes perpendiculaires. Un suivi de croissance ainsi que de l'évolution de la taille des halos de dégradation serait alors réalisé, avec l'objectif de mettre en évidence des halos de dégradation significativement plus élevés au croisement des inoculums bactériens et fongiques.

## *Culture itérative des isolats les plus prometteurs*

Dans un troisième temps, à partir de ces sept isolats sélectionnés (incluant *Zalerion maritima*) et les isolats présentant un halo de dégradation sur milieux supplémentés en PHBV ou de consortiums, il serait également envisageable d'explorer la culture itérative sur un polymère cible pour optimiser les capacités de dégradation des plastiques, en vue d'évaluer leur potentiel industriel, étant donné l'importance de la possibilité d'utiliser la biodégradation des plastiques dans un contexte environnemental et économique. Cette démarche impliquerait d'examiner comment ces organismes se comportent dans des conditions de culture en série, visant à améliorer leurs performances de dégradation des plastiques.

Les isolats les plus prometteurs et/ou les consortiums les plus prometteurs sélectionnés seraient soumis à différents niveaux initiaux de particules de plastique afin de déterminer la concentration optimale de plastique en tant que source de carbone, ainsi que les concentrations maximales inhibitrices pour ces organismes lorsqu'ils sont cultivés en cultures discontinues. À partir de la concentration de plastique que les cellules seraient capables de métaboliser, par évolution expérimentale, une augmentation progressive de la concentration en particules de plastique sera entreprise en cultures répétées sur des milieux de culture contenant des plastiques comme sources uniques de carbone pour améliorer continuellement les capacités de biodégradation de ces organismes. L'objectif est de contraindre l'adaptation des micro-organismes et d'évaluer si la dégradation du plastique est plus importante après une dizaine d'itérations, comme cela a été révélé précédemment chez *Trichoderma reesei* pour d'autres composés complexes tels que la cellulose (Rosenholm & Aspeborg 2016). La culture itérative sera traitée dans des microplaques à 96 puits pour permettre la caractérisation des paramètres de croissance à l'aide de la néphélométrie laser. Pour chaque itération, les courbes de croissance des champignons seront analysées afin de mettre en évidence toute évolution significative des taux de croissance comme indicateur de l'adaptation contrainte des micro-organismes.

Un facteur critique susceptible de limiter l'utilisation du plastique est la température de la culture, et ce facteur sera examiné séparément afin de fournir à ces organismes des conditions environnementales les plus appropriées. Des études antérieures ont démontré

que le taux de biodégradation du PBSA, du PBS et du PCL était plus élevé à des températures plus basses (14°C et 20°C plutôt qu'à 25°C) (Urbanek *et al.* 2021). Ainsi, les conditions de température optimales pour la croissance seraient testées afin d'évaluer l'efficacité avec laquelle les concentrations initiales de plastique pourraient être pleinement métabolisées. Ces approches expérimentales permettraient éventuellement d'optimiser les capacités de dégradation des plastiques de ces micro-organismes dans des conditions de culture contrôlées et pourraient fournir des informations précieuses pour leur utilisation future dans des applications de biorestauration environnementale.

### *Approches génomique, transcriptomique et enzymatique*

Dans un dernier temps, une fois nos résultats consolidés, il serait bénéfique d'initier le séquençage des génomes des six espèces identifiées dans notre étude, plus les isolats prometteurs sur milieux supplémentés en PHBV, afin d'explorer de manière approfondie leur potentiel métabolique. Cette analyse génomique permettrait par la suite une comparaison détaillée de leurs génomes avec ceux d'espèces apparentées, dans le but de mettre en évidence la présence potentielle de gènes impliqués dans la biodégradation des plastiques, ou inversement, de révéler des gènes non explorés dans cette voie métabolique.

De plus, une analyse de transcriptomique comparative pourrait être entreprise afin de mettre en lumière les voies de dégradation spécifiques chez ces organismes, fournissant ainsi un aperçu précieux de leurs mécanismes de dégradation des plastiques. Des cultures des isolats pourraient être menées dans un milieu minimal, représentatif de l'environnement marin, avec du glucose ou le polymère déterminé comme seule source de carbone. L'analyse transcriptomique serait ensuite réalisée, sans a priori dans un premier temps, pour identifier des gènes surexprimés afin, dans un deuxième temps de confirmer ou réfuter les hypothèses formulées sur l'implication de ces gènes dans les processus de dépolymérisation des polymères.

Concernant la sélection d'enzymes potentiellement utiles dans le processus de dégradation des plastiques, il est important de noter qu'il n'existe pas de méthode universelle. À partir des génomes séquencés des isolats d'intérêt, l'objectif sera donc de cibler les gènes codant pour des protéines ou des enzymes d'intérêt. Grâce à cette étude protéomique, les domaines

transmembranaires seront identifiés dans les bases de données PAZy et PMBD. L'extraction des ARN totaux sera réalisée pour amplifier l'ADN complémentaire correspondant dépourvu des potentiels introns. Par la suite, le produit PCR pourrait être utilisé pour des approches d'expression hétérologue visant à étudier finement les protéines d'intérêt. Il serait également intéressant de générer des gènes recombinants intégrés génomiquement pour la production de protéines fluorescentes, afin de démontrer la capacité des isolats modifiés à convertir efficacement les polymères identifiés en protéines fluorescentes, comme observé dans une étude sur la conversion du PE en protéines recombinantes chez *Pseudomonas aeruginosa* (Connor *et al.* 2023). Ainsi, en prenant exemple sur la PET-dépolymérase naturellement présente chez *Ideonella sakaiensis*, une stratégie d'ingénierie des protéines pourra être développée en utilisant plusieurs variantes des enzymes identifiées, qui seront évaluées pour leur stabilité thermique élevée afin d'améliorer l'activité de dégradation des polymères (Son *et al.* 2019), permettant d'accélérer le processus de biodégradation. Ces recherches ont permis une dépolymérisation minimale de 90 % du PET en monomères, comparé à seulement 31 % naturellement (Tournier *et al.* 2023). L'intelligence artificielle peut également être utilisée pour trouver les meilleures mutations pour améliorer la stabilité ou une forme d'activité spécifique chez les enzymes (Lu *et al.* 2022).

En conclusion, ces travaux de thèse ont confirmé l'existence de communautés fongiques associées aux déchets plastiques marins, montrant des patrons de distribution affectés par la géographie, la durée d'immersion et le type de polymères. Cette thèse souligne l'importance des approches culture-indépendantes et -dépendantes pour caractériser de manière exhaustive ces communautés. La collection d'isolats générée a permis de mettre en évidence la capacité d'utilisation de polymères par six espèces, dont une pathogène opportuniste et une potentiellement originale. Enfin, il est important de noter que ce sujet de thèse introduisait une thématique de recherche nouvelle au LUBEM, qui a, je l'espère, contribué au dynamisme de cette thématique, au regard notamment du nombre croissant d'études portant la plastisphère fongique en milieu marin ces dernières années.





## Annexes

**Annexe 1 : Revue de littérature de 45 études analysant la plastisphère sur les débris plastiques marins en mettant l'accent sur les communautés fongiques (mise à jour à partir de Wright *et al.* 2020a).**

La première colonne indique si l'étude a été menée dans l'eau douce ou dans l'environnement marin (bleu marine), en laboratoire ou sur le terrain (jaune), les différents types de plastiques, conventionnels ou biodégradables (vert), et si les plastiques ont été collectés naturellement dans l'eau douce ou dans la mer (collecte), ou introduits par les chercheurs et collectés soit à un seul point dans le temps, soit à une série de points dans le temps (bleu). Les chiffres indiquent les temps d'incubation. La caractérisation de la communauté procaryote et eucaryote indique si la plastisphère a été analysée par séquençage à haut débit de l'ARNr 16S, 18S, 23S ou ITS (ainsi que les amorces utilisées) ou si la microscopie a été utilisée pour visualiser le biofilm (violet). Les contrôles (orange) mettent en évidence les études qui comparent la Plastisphère avec la communauté microbienne de l'eau de mer environnante ou avec des matières organiques particulières (> 3 µm), ou des biofilms qui se développent sur des surfaces inertes (par exemple, verre, bois, etc.). La dernière colonne (rouge) indique si les études ont mis en évidence une différence significative entre les communautés microbiennes associées aux plastiques et celles de l'eau environnante ou les contrôles. NA signifie "Non analysé". '!' signifie qu'une influence a été observée

Author et al. Year	Fresh Water		Marine		Laboratory		Field		Conventional		Biodegradable		Collection		Single time point	Time series	16S	18S	23S	ITS	Microscopy	Water	Particle-associated	Biofilm	Difference plastics vs seawater	Difference plastics vs control	
	Fresh Water	Marine	Laboratory	Field	Conventional	Biodegradable	Collection	Single time point																			
Zettler et al. 2013									PP, PE																		
Nauendorf et al. 2016									PE		Biodegradable bags				98												NA
Oberbeckmann et al. 2016									PET						~30												
Debroas et al. 2017									PE, PP, PET, PS																		
Kettner et al. 2017									PE, PS						15												
De Tender et al. 2017									PE						308												
Ogonowski et al. 2018									PP, PS, PE																		
Dussud et al. 2018									PE, PP, PS and others																		NA
Dussud et al. 2018									PE, OXO		PHBV, AA-OXO																NA
Oberbeckmann et al. 2018									PS, HDPE						14												
Kirstein et al. 2018									HDPE, LDPE, PP, PS, PET, SAN, PESTUR, PVC		(PLA)				~450												NA
Miao et al. 2019									PE, PP						21												NA
Kesy et al. 2019									PE, PS						7												
Erni-Cassola et al. 2020									PE, LDPE						9												NA
Kettner et al. 2019									PE, PS						15												
Muthukrishnan et al. 2019									PET, PE																		NA
Pinto et al. 2019									LDPE, HDPE, PP, PE, PVC DEHP, PVC DINP						~60												
Li et al. 2019									PE, PP, PS, PVC, PU																		NA
Rajeev et al. 2019									PVC						3												NA
Kirstein et al. 2019									HDPE, LDPE, PP, PS, PET, SAN, PESTUR, PVC		(PLA)				60												NA
Song et al. 2020															14/23/33/79												
Lacerda et al. 2020									PE, PA, PU, PP, PS, CA																		NA
Agostini et al. 2021									PP, HDPE, HDPE-OXO						719												NA
Cheng et al. 2021									HDPE, PLA						66												
Vaksmas et al. 2021									PE, PP, PS																		NA
Zhang et al. 2021									PP, PE, PLA		(PLA)				42												NA
Bhagwat et al. 2021									PP, PS, PVC		PCL																NA
Zhang et al. 2021									PE, PP, PS, PU, PET, PVC						42												
Wang et al. 2021									PP, PE						196												
Miao et al. 2021									PVC, PET						44												NA
Tobias-Hünefeldt et al. 2021									Acryl						56												NA?
Zhao et al. 2021									PE, PP, PS						84												NA?
S.-J. Zhang et al. 2022									PE, PP, PS, PVC, ABS						56												
Lacerda et al. 2022									PA, PU, PE, PS, PP, PET, CA, EVA																		NA
Vincent et al. 2022									PVC, PS						21												NA
Silva, Pérez, et Gillanders									PEHD, PVC, LDPE, PP, PS, PET						28												
Martínez-Campos et al. 2023									LDPE, PET, PS, PVC						365												
Tarchi et al. 2023 ?									PEHD, PVC, LDPE, PP, PS, PET																		NA
Miao et al. 2023									PE, PP, PLA, PBAT						80												NA
Sérvulo et al. 2023									PE, PP						90												NA
Dodhia et al. 2023									PE, PS						365												
Caruso et al. 2023									PVC, PE						365												NA
Delacuvellerie et al. 2023									PBAT, PS		(PLA)				260												NA
Wanyi Li et al. 2023									PET, SBP						80												NA
Di Pippo et al. 2023															77												NA

**Annexe 2 : Sélection de isolats fongiques présentant un potentiel de dégradation du plastique.**

Fungal species / isolates	Isolation source	Conventional polymers		Biodegradable polymers		Incubation time (days)	Degradation-highlighting technique										Highlighted enzymes	References								
		P N P P P P P P C Y U E D D D P S V E I O n P P P C T A L B B S S A O	P H L P P P E E E C T	P P P P P P O B C H H B B L X	P P P P P P O T V A		FTIR	DRX/DSC	GPC/ SDS-PAGE	GC-MS	SEM/AFM	% WL	% TS	Plate assay	CO <sub>2</sub> test	NMR			HT-GPC	TOC	<sup>13</sup> C-label					
		Bar chart indicators for conventional and biodegradable polymers.																								
<i>Abidia</i> sp., <i>Actinomucor elegans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Bjerkandera adusta</i> , <i>Cladosporium subcinereum</i> , <i>Fusarium</i> sp., <i>Mortierella</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Trichoderma harzianum</i>	Agricultural soil					365															Clearance zone formation		Jeszeová et al. (2018)			
<i>Agaricus bisporus</i> , <i>Marasmius oreades</i>	Fruiting bodies (macrofungi)					6 and 14																Clearance zone formation		Brunner et al. (2018)		
<i>Alternaria alternata</i> FB1	Marine					120	Formation of carbonyl bonds	Relative crystallinity degree : 52,79 % to 52,02 %	Reduction of 96% in Mw	Products with a lower Mw													Synthesis of laccases and peroxidases	Gao et al. (2022)		
<i>Alternaria alternata</i> , <i>Aspergillus caespitosus</i> , <i>Aspergillus terreus</i> , <i>Eupenicillium hirayamae</i> , <i>Phialophora alba</i> , <i>Paecilomyces variotii</i>	Mangrove					28						Adhesion of fungal cells to the plastic surface	Weight loss											Production of laccase, manganese-dependent peroxidases, and lignin-peroxidases	Ameen et al. (2015)	
<i>Alternaria</i> sp.	Bath tub					180						Scratches, slits and holes on plastic surface												Moriyama et al. (1993)		
<i>Alternaria</i> sp.	Environment					70				Degraded product of ethylphenylcarbamate	Melted and dislocated structure; hyphae penetrated the affected area	27.5% weight loss										Clearance zone formation		Matsumiya et al. (2010)		
<i>Alternaria</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp.	Multiple collection					60	Peak intensity variation					Deep holes, regular network of excavations and irregular surface with shallow cracks	3,2%, 8,9% et 1,5% weight loss											Magnin et al. (2019)		
<i>Alternaria tenuissima</i>	NM					30 and 60	Structural changes					Presence of cracks and holes on plastic surface												Oprea et al. (2018)		
<i>Aspergillus clavatus</i> JASK1	Soil					90	Structural change					Formation of grooves, fractures and mild erosion	35 % weight loss				2.32 g.L <sup>-1</sup> production of CO <sub>2</sub>								Gajendiran et al. (2016)	
<i>Aspergillus flavus</i>	Guts of <i>Galleria mellonella</i>					28	Appearance of hydroxyl, carbonyl and ether groups						3,9025 ± 1,18 % weight loss									Clearance zone formation		Erosion at the surface of the pellets	Two laccase-like multicopper oxidases (LMCOs) genes	Zhang et al. (2020)
<i>Aspergillus flavus</i> (ITCC 6051)	Soil from waste disposal site					30	Ester bond hydrolysis					Pits, erosions, and dark spots	60.6 ± 0.3% weight loss											Esterase production	Mathur and Prasad, 2012	
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i>	Soil from waste disposal site					180							Weight loss : <i>Aspergillus niger</i> 26.17%, <i>A. flavus</i> 16.45%									Clearance zone formation		Deepika and Madhuri, 2015		
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus terreus</i>	Landfill soil					120 et 270	Peak formation, reduction, or disappearance					Peeling, holes and exfoliation at the film surface	14.3% and 13.1% weight loss												Verma and Gupta (2019)	
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus japonicus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Fusarium</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Mucor</i> sp.	Plastic contaminated soil					28							Weight loss : <i>Aspergillus japonicus</i> 36%, <i>Fusarium</i> sp 32%, <i>Aspergillus flavus</i> 30%, <i>Penicillium</i> sp 24%, <i>Aspergillus niger</i> 20%, <i>Mucor</i> sp 16%									Clearance zone formation		Singh and Gupta (2014)		

<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Mucor rouxii</i> NRRL 1835	Culture			7, 14 et 28					Tensile strength decrease				El-Shafei et al. (1998)	
<i>Aspergillus flavus</i> VRKPT2, <i>Aspergillus tubingensis</i> VRKPT1	Soil from plastic waste dumped marine coastal habitats			30	Formation of functional groups and side chain modifications			Alteration of the surface topology of HDPE films	6.02 ± 0.2% and 8.51 ± 0.1% weight loss by VRKPT1 and VRKPT2				Devi et al. (2015)	
<i>Aspergillus flavus</i> MCP <sub>5</sub> , <i>Aspergillus flavus</i> MMP <sub>10</sub>	Dumpsite soil			5					3.33% weight loss				Kunlere et al. (2019)	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Soil			60, 120 and 180	Impact on functional group bonds			Appearance of significant cracks and pores on the surface	18.08% weight loss				Oliya et al. (2020)	
<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus terreus</i>	Landfill soil	*		100	Structural changes			Pitted and eroded surfaces					Zahra et al. (2010)	
<i>Aspergillus fumigatus</i> L30, <i>Aspergillus terreus</i> HC	Soil			30				Cracks and holes, internal erosion and irregular cavities	78% weight loss			Structural weakening	Chien et al. (2022)	
<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Xylaria</i> sp.	Landfill soil			30	Structural changes			Surface changes			1.460 g.L <sup>-1</sup> and 1.350 g.L <sup>-1</sup> production of CO <sub>2</sub>		Jeeva Dharshni and Kanchana (2021)	
<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>Lasiodiplodia crassispora</i>	Landfill soil	*	*	90					Weight loss on LPDE: <i>A. niger</i> 5.11%, <i>A. fumigatus</i> 3.86%, <i>Penicillium</i> sp. 3.87%, <i>F. oxysporum</i> 4.09%, <i>L. crassispora</i> 1.58%, <i>T. harzianum</i> 3.42% Weight loss on PLUR: <i>A. niger</i> 2.18%, <i>A. fumigatus</i> 2.15%, <i>Penicillium</i> sp. 1.46% <i>F. oxysporum</i> 1.54%, <i>L. crassispora</i> 0.63%, <i>T. harzianum</i> 1.29%	Tensile strength decrease	Clearance zone formation: <i>Aspergillus niger</i> 85%, <i>A. fumigatus</i> 78%, <i>Penicillium</i> sp. 75% <i>F. oxysporum</i> 74%, <i>L. crassispora</i> 40%, <i>T. harzianum</i> 72%			Raghavendra et al. (2016)
<i>Aspergillus fumigatus</i> B2,2(MG779513), <i>Aspergillus nidulans</i> E1,2 (MG779511), <i>Aspergillus oryzae</i> A5,1(MG779508)	Plastic dumpsite			56, 84 et 112	New functional groups (new peaks)	Detection of ketones, intermediate products of biodegradation			24 ± 3,26% et 18 ± 2,20% and 36,4 ± 5,53% weight loss				Muhonja et al. (2018)	
<i>Aspergillus glaucus</i> , <i>Aspergillus niger</i>	Mangrove soil			30					Weight loss: <i>A. glaucus</i> 28.80 ± 2.40%, <i>A. niger</i> 17.35 ± 2%				Kathiresan, 2003	
<i>Aspergillus niger</i> (ITCC no. 6052)	Soil from plastic waste disposal site	*		30	Decrease in the amount of carbonyl residues			Heavy colonization, striations, hyphal penetration in the film, and changes in the appearance of the film	3.44% weight loss	61% reduction in tensile strength			Mathur et al. (2011)	
<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus japonicus</i>	Polythene bags from polluted site			28				Surface corrosion, folding and cracks	5.8% and 11.11% weight loss				Raaman et al. (2012)	
<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. terreus</i>	Mangrove soil			77				Crack formation on the plastic films	35.3% and 22.14% weight loss				Sáenz et al. (2019)	
<i>Aspergillus niger</i> , <i>Cladosporium herbarum</i>	Culture			70				Morphological and structural changes					Filip (1979)	
<i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium pinophilum</i>	Culture	*		930	Structural and morphological changes	Crystallinity decrease			Superficial appearance changes		0,37% and 0,64% CO <sub>2</sub> production		Volke-Sepúlveda et al. (2002)	

<i>Aspergillus niger</i> PV3, <i>Aspergillus sydowii</i> PV4, <i>Lentinus tigrinus</i> PV2, <i>Phanerochaete chrysosporium</i> PV1	Soil						300	Appearance of new peaks and shifting of existing peaks		Molecular weight decrease		Appearance of hexagonal rings				6.02 g.L <sup>-1</sup> CO <sub>2</sub> production with <i>A. niger</i> PV3 7.31 g L <sup>-1</sup> CO <sub>2</sub> production with <i>P. chrysosporium</i> PV1	Chemical shift of peaks				Ali et al. (2014)
<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus terreus</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Penicillium</i> sp.	Seawater						30					Porosity and fragility	Weight loss : <i>Aspergillus niger</i> 19.5%, <i>Aspergillus flavus</i> ) 16.2%, <i>Aspergillus terreus</i> 21.8, <i>Aspergillus fumigatus</i> 20.5%, <i>Penicillium</i> sp. 43.4%							Alshehrei, 2017	
<i>Aspergillus nomius</i> , <i>Trichoderma viride</i>	Landfill soil						45						6.63% and 5.13% weight loss	40% and 58% loss of tensile strength							Munir et al. (2018)
<i>Aspergillus oryzae</i>	Soil from waste disposal site						784	Appearance of aldehyde, ether and carboxyl functional groups					36.4 ± 5.53% weight loss								Muhonja et al. (2018)
<i>Aspergillus terreus</i> MF12	Plastic waste dump yard		*				30	Increased crystallinity		Detection of carboxylic acids and alkanes		Surface modification	Degradation rate gradually enhanced from 9.4 ± 0.1 to 16.7 ± 0.159 %								Balasubramanian et al. (2014)
<i>Aspergillus terreus</i> , <i>Aspergillus sydowii</i>	Rhizosphere soil						60	Changes in carbonyl index				Formation of the cracks/holes/scions	Weight loss : <i>A. terreus</i> 41.82±5.47%, <i>A. sydowii</i> 37,94±3,06%	<i>A. sydowii</i> 94.44±2.40% loss of tensile strength							Sangale et al. (2019)
<i>Aspergillus tubingensis</i>	Soil from waste disposal site						20	Appearance of new peaks and disappearance of existing peaks				Pores and cracks in surface areas		Loss of tensile strength							Lipase and esterase production Khan et al. (2017)
<i>Aspergillus ustus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i>	Soil						10		Structural changes			Losses and fogging									Szumigaj et al. ( 2008 )
<i>Aspergillus versicolor</i> , <i>Aspergillus</i> sp.	Seawater						10					Formation of pits, cracks and holes				3.8 g.L-1 and 4 g.L-1 of CO <sub>2</sub> production					Pramila and Vijaya Ramesh (2011)
<i>Aspergillus</i> sp.	Soil from waste-dumping site						28	Changes in various peaks at different wavelength ranges	Increased degree of crystallinity			Emergence of deformities	15–20% weight loss			10.05 g.L-1 CO <sub>2</sub> production					Esterase production Osman et al. (2018)
<i>Fusarium</i> sp., <i>Penicillium</i> sp.	Dumping place						90	Formation of new functional groups				Appearance of crystalline spherulites	Reduction of 0.59% and 0.36% with <i>Fusarium</i> sp. and <i>Penicillium</i> sp.								De Silva et al. (2019)
<i>Aspergillus</i> sp., <i>Paecilomyces lilacinus</i>	Leaf and stem of <i>Humboldtia brunonis</i>		*				90	Shift in the group frequencies	Crystallinity decrease			Occurrence of fissures	Weight loss								Laccase production Sheik et al. (2015)
<i>Aspergillus</i> sp., <i>Fusarium</i> sp.	Soil buried LDPE films						60	Surface chemical changes				Formation of various holes and irregularities	8 % and 9 % weight loss			20.26% and 19.38% CO <sub>2</sub> production					Das and Kumar (2014)
<i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp.	Soil						3-5					Pits and cracks observed on the surface of strips			<i>Aspergillus</i> sp. (12mm clear zone) and <i>Penicillium</i> sp. (8mm)						Ahsan et al. (2016)
<i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp.	NM						30	Modification of band intensity				Evidence of fungal spore adhesion	2.32% weight loss								de Oliveira et al. (2020)



<i>Aspergillus</i> sp. ST-01	Soil		4					Particle disintegration					After 72 h, complete fragmentation of the film samples		Sanchez et al. (2000)
<i>Aspergillus</i> sp. XH0501-a	UV mutant		5				Exo-type mode of action for the enzyme							Synthesis of extracellular PBS-degrading enzyme	Li et al. (2011)
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Atmosphere		665					Colonization (but no evidence of penetration)	6,8% weight loss				Clear-zone production, and growth on DOA agar	Esterase production	Webb et al. (2000)
<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Cladosporium</i> sp., <i>Curvularia senegalensis</i> , <i>Fusarium solani</i>	Garden soil		7, 14 and 21										Clearance zone formation		Crabbe et al. (1994)
<i>Bjerkandera adusta</i>	Culture		49	Broad O-H stretching band and carbonyl band of hydroxyl and carbonyl groups (decrease of hydrophobicity)				Formation of cracks and scraps, generating a rougher outer surface							Butnaru et al. (2016)
<i>Bjerkandera adusta</i>	Factory producing nylon-6		60		Decrease in melting temperature			Superficial damage in the form of transverse grooves					Clearance zone formation	Manganese peroxidase production	Friedrich et al. (2007)
<i>Candida tropicalis</i>	Culture		30					Cracks and microbubbles in polymer matrix	22.3% weight loss			2.69 g.L-1 CO₂ production			Zahari et al. (2021)
<i>Cephalosporium</i> sp.	Culture		20	Increment in the intensity of the band and the formation of new peaks	Reduction in crystallinity			Formation of rough surfaces, cracks and tiny holes	7.18±0.15% of weight loss						Chaudhary and Vijayakumar (2020)
<i>Cephalosporium</i> sp., <i>Mucor</i> sp.	Culture		56	Peak shifting		Decrease of molecular weight	Presence of alkanes, alkenes, acids, alcohols, antioxidants, and aromatic hydrocarbon compounds	Creation of cracks, erosion, and holes	2.17±0.16% and 1.81±0.13% weight loss with <i>Cephalosporium</i> sp. and <i>Mucor</i> sp.						Chaudhary and Vijayakumar (2020)
<i>Ceriporia</i> sp. BIOM3, <i>Cymatoderma dendriticum</i> WM01, <i>Pestalotiopsis</i> sp. NG007	NM		30	Removal of some functional groups				Micropores in the surface	19.44, 15.70 and 74.43% weight loss						Yanto et al. (2019)
<i>Chaetomium globosum</i> (ATCC 16 021)	Culture		28					Superficial erosion with wrinkle aspect, spherulitic degradation	75% and 9% weight loss on PCL and PVC, respectively						Vivi et al. (2019)
<i>Cladosporium pseudocladosporioides</i> strain T1.PL.1	Soil		14	Loss of carbonyl groups and N—H bonds			Decrease in ester compounds and increase in alcohols and hexane diisocyanate		87% weight loss				Clearance zone formation	Esterase production	Alvarez-Barragan et al. (2016)
<i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Purpureocillium lilacinum</i>	Agricultural soil		14					NA					Clearance zone formation		Penkhru et al. (2015)
<i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Leptosphaeria</i> sp., <i>Penicillium griseofulvum</i> , <i>Xepiculopsis graminea</i>	Plastic debris		6										Clearance zone formation		Brunner et al. (2018)

<i>Cladospirium halotolerans</i> 6UPA1	Marine				60	Breaking the carbonyl groups and C-N-H bonds	Polyols and alkane = degradation intermediates, Hydrolysis of ester and urethane bonds	Change of the plastic surface shape										Lipase and cutinase production	Zhang et al. 2022
<i>Cionostachys rosea</i> , <i>Trichoderma</i> sp.	Arctic soil				NM					100% weight loss on starch films and 52.91% on PVC		Clearance zone formation							Urbanek et al. (2017)
<i>Cochliobolus</i> sp.	Landfill soil				90	Appearance of new peaks, decrease in the intensity and narrowing peaks	Composition of metabolites	Morphological and structural change										Laccase production	Sumathi et al. (2016)
<i>Diaporthe italiana</i> , <i>Thyrostroma jaczewskii</i> , <i>Stagonosporopsis citrulli</i>	Culture				30, 60 and 90	Changes in bond scission, chemical transformation formation, and disappearance of new functional groups	Detection of volatile organic compounds (VOCs)	Grooves, cracks, damaged layer, fragileness, pits and roughening of the surface	43.90%, 46.34% and 45.12% weight loss	6.40%, 5.61% and 5.37% loss of tensile strenght			0.36 to 1.22%, 0.45 to 1.45% and 0.33 to 1.26% CO <sub>2</sub> production						Khruengsai et al. (2021)
<i>Enayodontium album</i> MTP091 (SF1), <i>Penicillium</i> sp. MTP093 (SF3), <i>Phanerochaete chrysosporium</i> NCIM 1170 (SF2)	Soil [E. album, <i>Penicillium</i> sp.], culture [ <i>P. chrysosporium</i> ]				NM		NA			Weight loss									Artham and Doble (2010)
<i>Fusarium falciforme</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Purpureocillium lilacinum</i>	Landfill soil				30	Decrease in the relative amount of methyl groups		Cavities, grooves and a flaking structure					Significant amount of CO <sub>2</sub> production						Spina et al. (2021)
<i>Fusarium solani</i> H14	Contaminated soil				3-5			Holes, folding, cracking and irregular fissuring	25.8% and 1.3% weight loss								Esterase and lipase production	Ren et al. (2021)	
<i>Fusarium solani</i> VKM F-4202, <i>Aspergillus calidoustus</i> VKM F-2909, <i>Parengyodontium album</i> VKM F-3028	Culture				30					90±5% weight loss on PVC with <i>Fusarium solani</i> VKM F-4202 30±3% and 28±2% weight loss on PLA with <i>Aspergillus calidoustus</i> VKM F-2909, <i>Parengyodontium album</i> VKM F-3028								Antipova et al. (2018)	
<i>Fusarium oxysporum</i>	Terrestrial environment				7												Esterase production	Nimchua et al. 2007	
<i>Fusarium solani</i>	Collection				4		9% increase in crystallinity	Increase surface roughness	5% weight loss								Cutinase production	Ronkvist et al. 2007	
<i>Fusarium</i> sp.	Sewage sludge				60			Erosions and extensive roughening of the surface with pits formation					1.85 g.L <sup>-1</sup> of CO <sub>2</sub> produced vs 0.45 g.L <sup>-1</sup> (control)						Shah et al. (2009)
<i>Fusarium</i> sp.	Soil				90	Decrease in the absorbance corresponding to carbonyl groups and C double bonds													Hasan et al. (2007)
<i>Fusarium</i> sp.	Composted soil				60			Partial stripping and deep hollows											Tachibana et al. (2010)
<i>Fusarium</i> sp. B30M, <i>Hansenula anomala</i> , <i>Sclerotinia</i> sp. B111V	Soil from Antarctica				30			Many cracks and pits	45.99%, 25.67% and 49.68% weight loss on PBSA			Clearance zone formation							Urbanek et al. (2021)
<i>Geomyces pannorum</i>	Acidic soil				150						<60% loss of tensile	Clearance zone formation							Cosgrove et al. (2007)



<i>Penicillium</i> sp.	Plastic waste dumped soil		28	Chemical changes in aliphatic and in the aromatic segments of PET		Visualization of fungal colonization												Sepperumal et al. (2013)
<i>Penicillium</i> sp., <i>Rhizopus arrhizus</i>	Soil		180						Weight loss (> 4%) over 6 months									Mahalakshmi and Andrew (2012)
<i>Penicillium variable</i> CCF3219	NM		112	Generation of carbonyl groups and reduction in the quantity of carbonyl groups	Molecular weight decrease	Rough surface		Weight loss										Tian et al. (2017)
<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Plant stem		14										Clearance zone formation					Russell et al. (2011)
<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Plant substrate		14										Clearance zone formation					Brunner et al. (2018)
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	Tropical plant ( <i>Nepenthes ampullaria</i> )		14-21										Clearance zone formation					Lii et al. (2017)
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Plastic disposal site		28	Changes in the peaks and chemical structure		Appearance of numerous holes and changes in the surface structure		31% weight loss				13.74 mg.L-1 CO <sub>2</sub> production					Lignin peroxidase production	Khatoun et al. (2019)
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> PV1	Soil		90	Appearance of new peaks and shifting of existing peaks	Molecular weight decrease	Erosions and extensive roughening on the top surface						7.85 g.L-1 CO <sub>2</sub> production	Chemical shifting and appearance of the new peak signals					Ali et al. (2014)
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> (ATCC 34,541)	Culture		90	Change in absorbance of bands								CO <sub>2</sub> production						Orhan and Büyükgüngör (2000)
<i>Phoma</i> sp.	Neutral soil		150							95% loss of tensile strength								Cosgrove et al. (2007)
<i>Pleurotus ostreatus</i> PLO6	Culture		30	Changes in the peaks and chemical structure		Physical alteration		Significant reduction in the dry mass of the substrates				CO <sub>2</sub> production						da Luz et al. (2015)
<i>Pleurotus ostreatus</i> PLO6	Culture		120	Changes in the peaks and chemical structure		Small pits, breaks, larger cracks and separation of fragments and scarification		Reduction in the dry mass of substrates				CO <sub>2</sub> production						da Luz et al. (2014)
<i>Pleurotus ostreatus</i> PLO6	Culture		46	Formation of hydroxyl groups and carbon-oxygen bonds		Formation of cracks and holes in the plastic surface		Reduction in the dry mass of substrates				CO <sub>2</sub> production						da Luz et al. (2013)
<i>Pseudozyma antarctica</i> JCM 10,317	Leaves and husks of paddy rice		42										Clearance zone formation					Kitamoto et al. (2011)
<i>Rhizopus oryzae</i> NS5 (Accession No. KT160362)	Culture		30			Formation of grooves		8,4 ± 3% weight loss	60% loss of tensile strength									Awasthi et al. (2017)

<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Marine		5										Degradation rates of 3.8% yr <sup>-1</sup> Mineralisation and assimilation of carbon from plastics		Vaksmaa et al. 2023
<i>Thermomyces insolens</i>	Collection		6	9% increase in crystallinity			Surface roughness	97 ± 3% weight loss						Cutinase production	Ronkvist et al. 2009
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Culture		30	Reduction in peak intensity and formation of new peaks			Formation of cavities and holes	9.21 ± 0.84% weight loss							Chaudhary et al. (2021)
<i>Trichoderma harzianum</i>	Soil from dumpsites		90	Formation of carboxylic acids, aldehydes, alcohols, esters, ethers, aromatics, and phenol groups			Formation of holes, disruption of polyethylene structure	23% weight loss	Clearance zone formation		Release of aromatic protons on the polyethylene structure			Synthesis of laccase and manganese peroxidase	Sowmya et al. (2014)
<i>Trichoderma viride</i> GZ1	NM		90	Changes in intensity of absorption bands			Development of fungal hyphae on plastic surface								Dąbrowska et al. (2021)
<i>Yarrowia lipolytica</i> IMUFRJ 50,682	Guanabara Bay estuary		4												da Costa et al. (2020)
<i>Zalerion maritima</i>	Culture		28	Reduction in the lipidic and proteic content, reduction of proteins and increase of carbohydrates			Morphological changes and chemical modifications to the PE particles	43% weight loss			NA				Paço et al. (2017)





## Valorisations scientifiques





## Participation à un chapitre d'ouvrage

Dans la cadre de ma thèse, j'ai participé à la rédaction d'un chapitre d'ouvrage « Marine Fungi », où j'ai eu l'opportunité de détailler la dégradation des plastiques par les communautés fongiques.

Burgaud, G., Edgcomb, V. P., Hassett, B. T., Kumar, A., Li, W., Mara, P., Peng, X., **Philippe, A.**, Phule, P., Prado, S., Quéméner, M., & Roullier, C. (2022). Marine Fungi. In L. J. Stal & M. S. Cretoiu (Eds.), *The marine microbiome. The microbiomes of humans, animals, plants, and the environment* (Vol. 3, pp. 243–295). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-90383-1\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-90383-1_5)

## Publication

**Philippe A**, Noël C, Eyheraguibel B, Briand J-F, Paul-Pont I, Ghiglione J-F, Coton E, Burgaud G. Fungal Diversity and Dynamics during Long-Term Immersion of Conventional and Biodegradable Plastics in the Marine Environment. *Diversity*. 2023; 15(4):579. <https://doi.org/10.3390/d15040579>

## Publication en préparation

**Philippe A**, Salaun M, Quemener M, Noël C, Taller K, Cassone A-L, Lacroix C, Coton E, Burgaud G. Colonization and Biodegradation Potential of Fungal Communities on Immersed Polystyrene vs. Biodegradable Plastics: A Time Series Study in a Marina Environment. **Manuscript in preparation.**

## Communications orales

- Colloque Biofouling & Antifouling VI, 2022
- GDR Polymères et Océans, 2022, *Communautés fongiques associées aux déchets plastiques marins et évaluation de leur potentiel en bioremédiation*
- MICRO, 2022, *Analysis of the fungal plastisphere and its biodegradation potential*
- Journées scientifiques de l'Ecole Doctorale EGAAL, 2022, *Analysis of the fungal plastisphere and its biodegradation potential*
- FEMS, 2023, *Analysis of the fungal plastisphere and its biodegradation potential*

## Vulgarisation scientifique

Participation à LABS (Les Apéros Brest en Sciences), avec Gaëtan Burgaud, *Des champignons marins qui dégradent le plastique*, le mardi 18 Octobre 2022

Colloque Biofouling & Antifouling VI, Avril 2022  
Toulon, France

La  
**Recherche**  
à l'**Université**

Colloque  
**Biofouling & Antifouling VI**

Mercredi 27 Avril 2022  
9h · 17h

Salles Raimu 2 et Puget

Palais Neptune · Toulon

14<sup>es</sup> Journées  
scientifiques  
[js2022.univ-tln.fr](http://js2022.univ-tln.fr)

COMITÉ D'ORGANISATION

Jean-François BRIAND  
briand@univ-tln.fr

Christine BRESSY  
bressy@univ-tln.fr

LABORATOIRE  
**MAPIEM**

MINISTÈRE DE  
Toulon  
PROVENCE  
MEDITERRANÉE

LE DÉPARTEMENT

REGION  
SUD  
CÔTE  
D'AZUR

UNIVERSITÉ DE  
**TOULON**

27

**Mercredi**  
Avril 2022

16h00

Communautés fongiques associées aux déchets plastiques marins et  
évaluation de leur potentiel en bioremédiation

**Aurélié Philippe**, LUBEM, Univ. Bretagne Occidentale, Plouzané

## Troisième rencontre du GDR Polymères et Océans, du 27 au 29 Juin 2022 Brest, France

### Communautés fongiques associées aux déchets plastiques marins et évaluation de leur potentiel en bioremédiation

Aurélié PHILIPPE<sup>1</sup>, Cyril NOËL<sup>2</sup>, Camille LACROIX<sup>3</sup>, Anne-Laure CASSONE<sup>3</sup>, Marie SALAUN<sup>1</sup>, Jean-François BRIAND<sup>4</sup>, Jean-François GHIGLIONE<sup>5</sup>, Emmanuel COTON<sup>1</sup>, and Gaëtan BURGAUD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ Brest, INRAE, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Écologie Microbienne, F-29280 Plouzané, France

<sup>2</sup> Ifremer, PDG-IRSI-SeBiMER, Plouzané, FRANCE

<sup>3</sup> Cedre, Centre de documentation, de recherche et d'expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux, Brest, FRANCE

<sup>4</sup> Laboratoire Matériaux Polymères Interfaces Environnement Marin (MAPIEM), EA 4323, Toulon, FRANCE

<sup>5</sup> Laboratoire d'Océanographie MICrobienne (LOMIC) UMR7621, Banyuls-sur-Mer, FRANCE

La dégradation du plastique est la résultante de réactions physiques, chimiques ou biologiques. Cette dernière voie est considérée comme réalisée en majeure partie par des microorganismes, majoritairement des bactéries. De récentes études ont néanmoins souligné le potentiel de dégradation de champignons marins, notamment pour le polyéthylène (PE) par *Zalerion maritimum* ou *Alternaria alternata*. Ces éléments amènent à s'interroger sur la diversité, la distribution et l'activité des communautés fongiques associées aux plastiques retrouvés en mer, mais également sur leur potentiel de biodégradation des plastiques et les mécanismes associés.

Dans cette étude (Projet ANR MycoPLAST), différents types de plastiques immergés en écosystème marin côtier ont été collectés et analysés en utilisant des approches moléculaires et/ou culturelles. Les résultats de *metabarcoding* (ADNr 18S et ITS2) nous ont permis d'inclure le règne fongique au concept de niche écologique de la plastisphère, jusque-là réservé aux bactéries et aux protistes. L'approche culturelle a permis d'obtenir 800 isolats fongiques à ce jour. Une analyse originale par néphélométrie laser nous a permis le criblage de ces isolats pour évaluer leur capacité d'utilisation de plastiques comme seule source de carbone. Sur les 192 isolats testés sur six polymères plastiques (PE/PHBV/PS/PCL/PET/PVC), 5 isolats semblent prometteurs étant donné leur spectre d'utilisation large (utilisation de plusieurs polymères) ou étroit (utilisation d'un seul polymère). Ces résultats devront être confirmés par ATR-IRTF et via l'utilisation de polymères marqués aux isotopes stables afin de certifier la dégradation et déterminer les voies métaboliques activées dans ce processus de dégradation.

Mots clés : champignons, *metabarcoding*, néphélométrie laser, biodégradation des plastiques

**Journées scientifiques de l'École Doctorale EGAAL, du 30 Juin au 1<sup>er</sup> Juillet  
2022  
Rennes, France**

**Analysis of the fungal plastisphere and its biodegradation potential**

Aurélié PHILIPPE<sup>1\*</sup>, Cyril NOËL<sup>2</sup>, Camille LACROIX<sup>3</sup>, Anne-Laure CASSONE<sup>3</sup>, Marie SALAUN<sup>1</sup>, Jean-François BRIAND<sup>4</sup>, Jean-François GHIGLIONE<sup>5</sup>, Emmanuel COTON<sup>1</sup>, and Gaëtan BURGAUD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ Brest, INRAE, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Écologie Microbienne, F-29280 Plouzané, France

<sup>2</sup> Ifremer, PDG-IRSI-SeBiMER, Plouzané, FRANCE

<sup>3</sup> Cedre, Centre de documentation, de recherche et d'expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux, Brest, FRANCE

<sup>4</sup> Laboratoire Matériaux Polymères Interfaces Environnement Marin (MAPIEM), EA 4323, Toulon, FRANCE

<sup>5</sup> Laboratoire d'Océanographie Microbienne (LOMIC) UMR7621, Banyuls-sur-Mer, FRANCE

**Keywords:** Plastic waste, Fungi, Ecology

**Abstract:**

Environmental contamination by plastic is a worldwide problem. In the environment, plastic degradation is the result of physical, chemical and biological reactions. The latter pathway is thought to be primarily carried out by microorganisms, in particular bacteria. However, recent research studies have highlighted the plastic degradation potential of marine fungi (i.e. *Zalerion maritimum* and *Alternaria alternata* on polyethylene -PE-). This raises questions about the diversity, distribution and activity of fungal communities associated with marine plastic waste, as well as their potential to degrade polymers and the involved metabolic mechanisms.

In the framework of the ANR project MycoPLAST, different types of plastics voluntarily immersed in seawater in coastal marine habitats were collected and analyzed using molecular and/or culturing approaches. We performed metabarcoding analyses of the mycobiome, targeting both the V4-V5 18S rRNA gene and the ITS2 region, to elucidate the fungal structure and composition. This also allows to incorporate the fungal kingdom to the concept of the "plastisphere" ecological niche, which is currently mainly dedicated to bacteria and protists. In parallel, using a culture-based approach, over 800 fungal isolates were obtained from marine plastic waste. An original laser nephelometry approach, dedicated to mid/high-throughput screening of fungal isolates was applied to assess their ability to use different kind of plastics (PE/PHBV/PS/PCL/PET/PVC) as unique carbon source. Overall, 11 fungal isolates (out of the 192 tested to this date) were of interest as they exhibited either broad (use of multiple polymers, 1 isolate) or limited (use of a single polymer, 10 isolates) spectra of utilization. Further studies will be performed to evaluate the actual biodegradation capacities of these isolates via ATR-IRTF and to decipher the metabolic pathways activated in these processes using stable isotope tagged polymers.

# MICRO2022, Conférence Internationale, du 14 au 18 Novembre 2022

## Lanzarote, Espagne

### Analysis of the fungal plastisphere and its biodegradation potential

Aurélien PHILIPPE<sup>1\*</sup>, Cyril NOËL<sup>2</sup>, Camille LACROIX<sup>3</sup>, Anne-Laure CASSONE<sup>3</sup>, Marie SALAUN<sup>1</sup>, Jean-François BRIAND<sup>4</sup>, Jean-François GHIGLIONE<sup>5</sup>, Emmanuel COTON<sup>1</sup>, and Gaëtan BURGAUD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ Brest, INRAE, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Écologie Microbienne, F-29280 Plouzané, France

<sup>2</sup> Ifremer, PDG-IRSI-SeBiMER, Plouzané, FRANCE

<sup>3</sup> Cedre, Centre de documentation, de recherche et d'expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux, Brest, FRANCE

<sup>4</sup> Laboratoire Matériaux Polymères Interfaces Environnement Marin (MAPIEM), EA 4323, Toulon, FRANCE

<sup>5</sup> Laboratoire d'Océanographie Microbienne (LOMIC) UMR7621, Banyuls-sur-Mer, FRANCE

**Keywords:** Plastic waste, Fungi, Ecology

#### Abstract:

Environmental contamination by plastic is a worldwide problem. In the environment, plastic degradation is the result of physical, chemical and biological reactions. The latter pathway is thought to be primarily carried out by microorganisms, in particular bacteria. However, recent research studies have highlighted the plastic degradation potential of marine fungi (i.e. *Zalerion maritimum* and *Alternaria alternata* on polyethylene -PE-). This raises questions about the diversity, distribution and activity of fungal communities associated with marine plastic waste, as well as their potential to degrade polymers and the involved metabolic mechanisms.

In the framework of the ANR project MycoPLAST, different types of plastics voluntarily immersed in seawater in coastal marine habitats were collected and analyzed using molecular and/or culturing approaches. We performed metabarcoding analyses of the mycobiome, targeting both the V4-V5 18S rRNA gene and the ITS2 region, to elucidate the fungal structure and composition. This also allows to incorporate the fungal kingdom to the concept of the "plastisphere" ecological niche, which is currently mainly dedicated to bacteria and protists. In parallel, using a culture-based approach, over 800 fungal isolates were obtained from marine plastic waste. An original laser nephelometry approach, dedicated to mid/high-throughput screening of fungal isolates was applied to assess their ability to use different kind of plastics (PE/PHBV/PS/PCL/PET/PVC) as unique carbon source. Overall, 11 fungal isolates (out of the 192 tested to this date) were of interest as they exhibited either broad (use of multiple polymers, 1 isolate) or limited (use of a single polymer, 10 isolates) spectra of utilization. Further studies will be performed to evaluate the actual biodegradation capacities of these isolates via ATR-IRTF and to decipher the metabolic pathways activated in these processes using stable isotope tagged polymers.

# FEMS 2023, du 9 Juillet au 13 Juillet 2023

## Hambourg, Allemagne

### Analysis of the fungal plastisphere and its biodegradation potential

Aurélie PHILIPPE<sup>1\*</sup>, Cyril NOËL<sup>2</sup>, Camille LACROIX<sup>3</sup>, Anne-Laure CASSONE<sup>3</sup>, Marie SALAUN<sup>1</sup>, Jean-François BRIAND<sup>4</sup>, Jean-François GHIGLIONE<sup>5</sup>, Emmanuel COTON<sup>1</sup>, and Gaëtan BURGAUD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ Brest, INRAE, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Écologie Microbienne, F-29280 Plouzané, France

<sup>2</sup> Ifremer, PDG-IRSI-SeBiMER, Plouzané, FRANCE

<sup>3</sup> Cedre, Centre de documentation, de recherche et d'expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux, Brest, FRANCE

<sup>4</sup> Laboratoire Matériaux Polymères Interfaces Environnement Marin (MAPIEM), EA 4323, Toulon, FRANCE

<sup>5</sup> Laboratoire d'Océanographie Microbienne (LOMIC) UMR7621, Banyuls-sur-Mer, FRANCE

**Keywords:** Plastic waste, Fungi, Ecology

#### Abstract:

**Background:** Environmental contamination by plastic is a worldwide problem. Recent research have highlighted the plastic degradation potential of marine microorganisms, including marine fungi. This raises questions about the diversity, distribution and activity of fungal communities associated with marine plastic waste, as well as their potential to degrade plastic polymers.

**Methods:** In the framework of the French ANR project MycoPLAST, different types of plastics, voluntarily immersed in various coastal marine habitats, were collected and analyzed using culture-independent and -dependent approaches.

**Objectives:** The aim was to explore the plastic-associated mycobiome, via metabarcoding analyses, targeting the V4-V5 18S rRNA gene and ITS2 region, and culturomics (i.e. high-throughput culturing).

**Results:** Using metabarcoding, our results show that fungal communities associated with plastic polymers differed from those found in the surrounding waters. They also significantly differed between sampling sites and polymer types (biodegradable/conventional). Temporal changes of colonization patterns were also observed after about 30 days, which may be related to the switch of the original microbial biofilm into biofouling communities. Overall, this work validates the view that the fungal kingdom is an integral part of the "plastisphere". Using culturomics, over 2000 fungal isolates were obtained from marine plastic waste. A laser nephelometry approach, dedicated to high-throughput screening of fungal isolates, was applied to assess their ability to utilize different kind of plastics (PE/PHBV/PS/PCL/PET/PVC) as a single carbon source and highlighted 16 promising fungal isolates (out of 500 tested to date) with a limited or broad spectrum of use (use of a single or multiple polymers).







## Références bibliographiques



## A

- Abelouah, M.R., Romdhani, I., Ben-Haddad, M., Hajji, S., De-la-Torre, G.E., Gaaied, S., Barra, I., Banni, M. & Ait Alla, A. (2023) Binational survey using *Mytilus galloprovincialis* as a bioindicator of microplastic pollution: Insights into chemical analysis and potential risk on humans. *Science of The Total Environment* 870: 161894. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161894>
- Acarer, S. (2023) Microplastics in wastewater treatment plants: Sources, properties, removal efficiency, removal mechanisms, and interactions with pollutants. *Water Science and Technology* 87: 685–710. <https://doi.org/10.2166/wst.2023.022>
- Acharya, T. & Hare, J. (2022) Sabouraud Agar and Other Fungal Growth Media. pp. 69–86.
- Ali, S.S., Abdelkarim, E.A., Elsamahy, T., Al-Tohamy, R., Li, F., Kornaros, M., Zuurro, A., Zhu, D. & Sun, J. (2023) Bioplastic production in terms of life cycle assessment: A state-of-the-art review. *Environmental Science and Ecotechnology* 15: 100254. <https://doi.org/10.1016/j.ese.2023.100254>
- Ali, S.S., Elsamahy, T., Al-Tohamy, R., Zhu, D., Mahmoud, Y.A.-G., Koutra, E., Metwally, M.A., Kornaros, M. & Sun, J. (2021a) Plastic wastes biodegradation: Mechanisms, challenges and future prospects. *Science of The Total Environment* 780: 146590. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146590>
- Ali, S.S., Elsamahy, T., Koutra, E., Kornaros, M., El-Sheekh, M., Abdelkarim, E.A., Zhu, D. & Sun, J. (2021b) Degradation of conventional plastic wastes in the environment: A review on current status of knowledge and future perspectives of disposal. *Science of The Total Environment* 771: 144719. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144719>
- Allen, S., Allen, D., Karbalaei, S., Maselli, V. & Walker, T.R. (2022) Micro(nano)plastics sources, fate, and effects: What we know after ten years of research. *Journal of Hazardous Materials Advances* 6: 100057. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100057>
- Allen, S., Allen, D., Moss, K., Roux, G.L., Phoenix, V.R. & Sonke, J.E. (2020) Examination of the ocean as a source for atmospheric microplastics. *PLOS ONE* 15: e0232746. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232746>
- Allen, S., Allen, D., Phoenix, V.R., Le Roux, G., Durántez Jiménez, P., Simonneau, A., Binet, S. & Galop, D. (2019) Atmospheric transport and deposition of microplastics in a remote mountain catchment. *Nature Geoscience* 12: 339–344. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0335-5>
- Al-Shihabi, S., Aydin, R. & Al Nahlawi, M. (2023) Forecasting the effects of municipal solid plastic waste generation and streaming using system dynamics: A case study in Dubai. *Science of The Total Environment* 897: 165204. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165204>
- Alves, L.M.F., Nunes, M., Marchand, P., Le Bizec, B., Mendes, S., Correia, J.P.S., Lemos, M.F.L. & Novais, S.C. (2016) Blue sharks (*Prionace glauca*) as bioindicators of pollution and health in the Atlantic Ocean: Contamination levels and biochemical stress responses. *Science of The Total Environment* 563–564: 282–292. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.085>
- Amadu, A.A., Qiu, S., Ge, S., Addico, G.N.D., Ameka, G.K., Yu, Z., Xia, W., Abbew, A.-W., Shao, D., Champagne, P. & Wang, S. (2021) A review of biopolymer (Poly- $\beta$ -hydroxybutyrate) synthesis in microbes cultivated on wastewater. *Science of The Total Environment* 756: 143729. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143729>
- Amaral-Zettler, L.A., Zettler, E.R. & Mincer, T.J. (2020) Ecology of the plastisphere. *Nature Reviews Microbiology* 18: 139–151. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0308-0>

- Amaral-Zettler, L.A., Zettler, E.R., Slikas, B., Boyd, G.D., Melvin, D.W., Morrall, C.E., Proskurowski, G. & Mincer, T.J. (2015) The biogeography of the Plastisphere: implications for policy. *Frontiers in Ecology and the Environment* 13: 541–546. <https://doi.org/10.1890/150017>
- Amelia, T.S.M., Khalik, W.M.A.W.M., Ong, M.C., Shao, Y.T., Pan, H.-J. & Bhubalan, K. (2021) Marine microplastics as vectors of major ocean pollutants and its hazards to the marine ecosystem and humans. *Progress in Earth and Planetary Science* 8: 12. <https://doi.org/10.1186/s40645-020-00405-4>
- Amend, A., Burgaud, G., Cunliffe, M., Edgcomb, V.P., Ettinger, C.L., Gutiérrez, M.H., Heitman, J., Hom, E.F.Y., Ianiri, G., Jones, A.C., Kagami, M., Picard, K.T., Quandt, C.A., Raghukumar, S., Riquelme, M., Stajich, J., Vargas-Muñiz, J., Walker, A.K., Yarden, O. & Gladfelter, A.S. (2019) Fungi in the Marine Environment: Open Questions and Unsolved Problems. *mBio* 10: 10.1128/mbio.01189-18. <https://doi.org/10.1128/mbio.01189-18>
- Amobonye, A., Bhagwat, P., Singh, S. & Pillai, S. (2021) Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes. *Science of The Total Environment* 759: 143536. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143536>
- An, Y., Kajiwarra, T., Padermshoke, A., Van Nguyen, T., Feng, S., Mokudai, H., Masaki, T., Takigawa, M., Van Nguyen, T., Masunaga, H., Sasaki, S. & Takahara, A. (2023) Environmental Degradation of Nylon, Poly(ethylene terephthalate) (PET), and Poly(vinylidene fluoride) (PVDF) Fishing Line Fibers. *ACS Applied Polymer Materials* 5: 4427–4436. <https://doi.org/10.1021/acsapm.3c00552>
- Andrady, A.L. (2011) Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin* 62: 1596–1605. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>
- Andrady, A.L. (2017) The plastic in microplastics: A review. *Marine Pollution Bulletin* 119: 12–22. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.082>
- Anon (2023) *Ideonella sakaiensis*. *Wikipédia*.
- Arias-Andres, M., Klümper, U., Rojas-Jimenez, K. & Grossart, H.-P. (2018) Microplastic pollution increases gene exchange in aquatic ecosystems. *Environmental Pollution* 237: 253–261. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.058>
- Ariza-Tarazona, M.C., Villarreal-Chiu, J.F., Hernández-López, J.M., Rivera De la Rosa, J., Barbieri, V., Siligardi, C. & Cedillo-González, E.I. (2020) Microplastic pollution reduction by a carbon and nitrogen-doped TiO<sub>2</sub>: Effect of pH and temperature in the photocatalytic degradation process. *Journal of Hazardous Materials* 395: 122632. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122632>
- Arthur, C., Baker, J. & Bamford, H. (2009) Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects and Fate of Microplastic Marine Debris. *National Oceanic and Atmospheric Administration Technical Memorandum NOS-OR&R-30*.
- Atamanalp, M., Kokturk, M., Gündüz, F., Parlak, V., Ucar, A., Alwazeer, D. & Alak, G. (2023) The Use of Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) as a Sentinel Species for the Microplastic Pollution of Freshwater: The Case of Beyhan Dam Lake, Turkey. *Sustainability* 15: 1422. <https://doi.org/10.3390/su15021422>
- Auta, H.S., Emenike, C.U. & Fauziah, S.H. (2017) Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environment International* 102: 165–176. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.02.013>

## B

- Baker-Austin, C., Oliver, J.D., Alam, M., Ali, A., Waldor, M.K., Qadri, F. & Martinez-Urtaza, J. (2018) *Vibrio* spp. infections. *Nature Reviews Disease Primers* 4: 1–19. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0005-8>

- Bandini, F., Vaccari, F., Soldano, M., Piccinini, S., Misci, C., Bellotti, G., Taskin, E., Cocconcelli, P.S. & Puglisi, E. (2022) Rigid bioplastics shape the microbial communities involved in the treatment of the organic fraction of municipal solid waste. *Frontiers in Microbiology* 13: 1035561. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1035561>
- Baptista Neto, J.A., Gaylarde, C., Beech, I., Bastos, A.C., da Silva Quaresma, V. & de Carvalho, D.G. (2019) Microplastics and attached microorganisms in sediments of the Vitória bay estuarine system in SE Brazil. *Ocean & Coastal Management* 169: 247–253. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2018.12.030>
- Barbe, V., Jacquin, J., Bouzon, M., Wolinski, A., Derippe, G., Cheng, J., Cruaud, C., Roche, D., Fouteau, S., Petit, J.-L., Conan, P., Pujó-Pay, M., Bruzard, S. & Ghiglione, J.-F. (2024) Bioplastic degradation and assimilation processes by a novel bacterium isolated from the marine plastisphere. *Journal of Hazardous Materials* 466: 133573. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.133573>
- Batterman, S. & World Health Organization. Water, S. and H.T. (2004) Findings on an assessment of small-scale incinerators for health-care waste.
- Bautista-Zamudio, P.A., Flórez-Restrepo, M.A., López-Legarda, X., Monroy-Giraldo, L.C. & Segura-Sánchez, F. (2023) Biodegradation of plastics by white-rot fungi: A review. *Science of The Total Environment* 901: 165950. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165950>
- Beneli, T.M., Pereira, P.H.C., Nunes, J.A.C.C. & Barros, F. (2020) Ghost fishing impacts on hydrocorals and associated reef fish assemblages. *Marine Environmental Research* 161: 105129. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.105129>
- Bergmann, M., Collard, F., Fabres, J., Gabrielsen, G.W., Provencher, J.F., Rochman, C.M., van Sebille, E. & Tekman, M.B. (2022) Plastic pollution in the Arctic. *Nature Reviews Earth & Environment* 3: 323–337. <https://doi.org/10.1038/s43017-022-00279-8>
- Bessa, F., Ratcliffe, N., Otero, V., Sobral, P., Marques, J.C., Waluda, C.M., Trathan, P.N. & Xavier, J.C. (2019) Microplastics in gentoo penguins from the Antarctic region. *Scientific Reports* 9: 14191. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50621-2>
- Bharath K, M., Natesan, U., R, V., R, P.K., R, R. & S, S. (2021) Spatial distribution of microplastic concentration around landfill sites and its potential risk on groundwater. *Chemosphere* 277: 130263. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130263>
- Bhat, M.A., Eraslan, F.N., Gedik, K. & Gaga, E.O. (2022) Impact of Textile Product Emissions: Toxicological Considerations in Assessing Indoor Air Quality and Human Health. In: J. A. Malik & S. Marathe (eds.) *Ecological and Health Effects of Building Materials*. Springer International Publishing, Cham, pp. 505–541.
- Bhat, M.A., Gedik, K. & Gaga, E.O. (2023) Atmospheric micro (nano) plastics: future growing concerns for human health. *Air Quality, Atmosphere & Health* 16: 233–262. <https://doi.org/10.1007/s11869-022-01272-2>
- Bindschedler, S. & Verrecchia, E.P. (2019) Fungal Weathering. In: M. Gargaud, W. M. Irvine, R. Amils, H. J. Cleaves, D. Pinti, J. Cernicharo Quintanilla, & M. Viso (eds.) *Encyclopedia of Astrobiology*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 1–6.
- Blaalid, R., Kumar, S., Nilsson, R.H., Abarenkov, K., Kirk, P.M. & Kausrud, H. (2013) ITS1 versus ITS2 as DNA metabarcodes for fungi. *Molecular Ecology Resources* 13: 218–224. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12065>
- Bondaroff, D.T.P. (2020) Masks on the Beach: The Impact of COVID-19 on Marine Plastic Pollution. *OceansAsia*.
- Bonugli-Santos, R., Dos, M., Vasconcelos, S., Passarini, M., Vieira, G., Lopes, V., Mainardi, P., Santos, J., Duarte, L., Ramos Otero, I., Da, A., Yoshida, S., Feitosa, V., Pessoa, A. & Sette, L. (2015) Marine-derived fungi: Diversity of enzymes and biotechnological applications. *Frontiers in microbiology* 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00269>

- Born, M.P., Brüll, C. & Schüttrumpf, H. (2023) Implications of a New Test Facility for Fragmentation Investigations on Virgin (Micro)plastics. *Environmental Science & Technology* 57: 10393–10403. <https://doi.org/10.1021/acs.est.3c02189>
- Boucher, J. & Friot, D. (2017) *Primary microplastics in the oceans: A global evaluation of sources*. IUCN International Union for Conservation of Nature
- Bragulat, M.R., Martínez, E., Castellá, G. & Cabañes, F.J. (2004) Selective Efficacy of Culture Media Recommended for Isolation and Enumeration of *Fusarium* spp. *Journal of Food Protection* 67: 207–211. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.1.207>
- Brahney, J., Mahowald, N., Farce, de Marje, Cornwell, G., Klimont, Z., Matsui, H. & Prather, K.A. (2021) Constraining the atmospheric limb of the plastic cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118: e2020719118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2020719118>
- Brooijmans, R.J.W., Pastink, M.I. & Siezen, R.J. (2009) Hydrocarbon-degrading bacteria: the oil-spill clean-up crew. *Microbial biotechnology* 2: 587–594. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2009.00151.x>
- Browne, M.A., Crump, P., Niven, S.J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T. & Thompson, R. (2011) Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks. *ACS Publications*. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/epdf/10.1021/es201811s> (July 30, 2023)
- Bryant, J.A., Clemente, T.M., Viviani, D.A., Fong, A.A., Thomas, K.A., Kemp, P., Karl, D.M., White, A.E. & DeLong, E.F. (2016) Diversity and Activity of Communities Inhabiting Plastic Debris in the North Pacific Gyre. J. K. Jansson (ed.). *mSystems* 1. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00024-16>
- Bucci, K., Tulio, M. & Rochman, C.M. (2020) What is known and unknown about the effects of plastic pollution: A meta-analysis and systematic review. *Ecological Applications* 30: e02044. <https://doi.org/10.1002/eap.2044>
- Burgaud, G., Edgcomb, V., Hassett, B.T., Kumar, A., Li, W., Mara, P., Peng, X., Philippe, A., Phule, P., Prado, S., Quémener, M. & Roullier, C. (2022) Marine Fungi. In: L. J. Stal & M. S. Cretoiu (eds.) *The Marine Microbiome. The Microbiomes of Humans, Animals, Plants, and the Environment*. Springer International Publishing, Cham, pp. 243–295.

## C

- Cai, L., Wang, J., Peng, J., Wu, Z. & Tan, X. (2018) Observation of the degradation of three types of plastic pellets exposed to UV irradiation in three different environments. *Science of The Total Environment* 628–629: 740–747. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.079>
- Cai, L., Yuan, M.-Q., Liu, F., Jian, J. & Chen, G.-Q. (2009) Enhanced production of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates (PHA) by PHA depolymerase knockout mutant of *Pseudomonas putida* KT2442. *Bioresource Technology* 100: 2265–2270. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.020>
- Canopoli, L., Fidalgo, B., Coulon, F. & Wagland, S.T. (2018) Physico-chemical properties of excavated plastic from landfill mining and current recycling routes. *Waste Management* 76: 55–67. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.03.043>
- Carpenter, E.J. & Smith, K. (1972) Plastics on the Sargasso Sea Surface. *Science* 175: 1240–1241. <https://doi.org/10.1126/science.175.4027.1240>
- Carson, H.S., Colbert, S.L., Kaylor, M.J. & McDermid, K.J. (2011) Small plastic debris changes water movement and heat transfer through beach sediments. *Marine Pollution Bulletin* 62: 1708–1713. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.032>

- Carson, H.S., Nerheim, M.S., Carroll, K.A. & Eriksen, M. (2013) The plastic-associated microorganisms of the North Pacific Gyre. *Marine Pollution Bulletin* 75: 126–132. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.07.054>
- Caruso, G., Maimone, G., Rappazzo, A.C., Dell'Acqua, O., Laganà, P. & Azzaro, M. (2023) Microbial Biofilm Colonizing Plastic Substrates in the Ross Sea (Antarctica): First Overview of Community-Level Physiological Profiles. *Journal of Marine Science and Engineering* 11: 1317. <https://doi.org/10.3390/jmse11071317>
- Cassoff, R.M., Moore, K.M., McLellan, W.A., Barco, S.G., Rotstein, D.S. & Moore, M.J. (2011) Lethal entanglement in baleen whales. *Diseases of Aquatic Organisms* 96: 175–185. <https://doi.org/10.3354/dao02385>
- Catarino, A.I., Macchia, V., Sanderson, W.G., Thompson, R.C. & Henry, T.B. (2018) Low levels of microplastics (MP) in wild mussels indicate that MP ingestion by humans is minimal compared to exposure via household fibres fallout during a meal. *Environmental Pollution* 237: 675–684. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.069>
- Chae, Y. & An, Y.-J. (2018) Current research trends on plastic pollution and ecological impacts on the soil ecosystem: A review. *Environmental Pollution* 240: 387–395. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.008>
- Chamas, A., Moon, H., Zheng, J., Qiu, Y., Tabassum, T., Jang, J.H., Abu-Omar, M., Scott, S.L. & Suh, S. (2020) Degradation Rates of Plastics in the Environment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 8: 3494–3511. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b06635>
- Chea, J.D., Yenkie, K.M., Stanzione, J.F. & Ruiz-Mercado, G.J. (2023) A generic scenario analysis of end-of-life plastic management: Chemical additives. *Journal of Hazardous Materials* 441: 129902. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129902>
- Chen, C., Chen, L., Yao, Y., Artigas, F., Huang, Q. & Zhang, W. (2019) Organotin Release from Polyvinyl Chloride Microplastics and Concurrent Photodegradation in Water: Impacts from Salinity, Dissolved Organic Matter, and Light Exposure. *Environmental Science & Technology* 53: 10741–10752. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03428>
- Chen, G.-Q., Chen, X.-Y., Wu, F.-Q. & Chen, J.-C. (2020) Polyhydroxyalkanoates (PHA) toward cost competitiveness and functionality. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research* 3: 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2019.11.001>
- Cheng, Y., Chen, J., Bao, M., Zhao, L. & Li, Y. (2022) The proliferation and colonization of functional bacteria on amorphous polyethylene terephthalate: Key role of ultraviolet irradiation and nonionic surfactant polysorbate 80 addition. *Chemosphere* 291: 132940. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132940>
- Chia, W.Y., Ying Tang, D.Y., Khoo, K.S., Kay Lup, A.N. & Chew, K.W. (2020) Nature's fight against plastic pollution: Algae for plastic biodegradation and bioplastics production. *Environmental Science and Ecotechnology* 4: 100065. <https://doi.org/10.1016/j.ese.2020.100065>
- Chinaglia, S., Tosin, M. & Degli-Innocenti, F. (2018) Biodegradation rate of biodegradable plastics at molecular level. *Polymer Degradation and Stability* 147: 237–244. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2017.12.011>
- Cho, Y., Shim, W.J., Jang, M., Han, G.M. & Hong, S.H. (2019) Abundance and characteristics of microplastics in market bivalves from South Korea. *Environmental Pollution* 245: 1107–1116. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.091>
- Cicatiello, P., Sorrentino, I., Piscitelli, A. & Giardina, P. (2020) Spotlight on Class I Hydrophobins: Their Intriguing Biochemical Properties and Industrial Prospects. In: H. Nevalainen (ed.) *Grand Challenges in Fungal Biotechnology*. Grand Challenges in Biology and Biotechnology. Springer International Publishing, Cham, pp. 333–347.
- Clukey, K.E., Lepczyk, C.A., Balazs, G.H., Work, T.M. & Lynch, J.M. (2017) Investigation of plastic debris ingestion by four species of sea turtles collected as bycatch in pelagic Pacific longline fisheries. *Marine Pollution Bulletin* 120: 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.04.064>



- Collard, F., Leconte, S., Danielsen, J., Halsband, C., Herzke, D., Harju, M., Tulatz, F., Gabrielsen, G.W. & Tarroux, A. (2022) Plastic ingestion and associated additives in Faroe Islands chicks of the Northern Fulmar *Fulmarus glacialis*. *Water Biology and Security* 1: 100079. <https://doi.org/10.1016/j.watbs.2022.100079>
- Connor, A., Lamb, J.V., Delferro, M., Koffas, M. & Zha, R.H. (2023) Two-step conversion of polyethylene into recombinant proteins using a microbial platform. *Microbial Cell Factories* 22: 214. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02220-0>
- Cox, K.D., Covernton, G.A., Davies, H.L., Dower, J.F., Juanes, F. & Dudas, S.E. (2019) Human Consumption of Microplastics. *Environmental Science & Technology* 53: 7068–7074. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01517>
- Cózar, A., Echevarría, F., González-Gordillo, J.I., Irigoien, X., Úbeda, B., Hernández-León, S., Palma, Á.T., Navarro, S., García-de-Lomas, J., Ruiz, A., Fernández-de-Puelles, M.L. & Duarte, C.M. (2014) Plastic debris in the open ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111: 10239–10244. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314705111>
- Cressey, D. (2016) Bottles, bags, ropes and toothbrushes: the struggle to track ocean plastics. *Nature* 536: 263–265. <https://doi.org/10.1038/536263a>

## D

- Dąbrowska, A., Mielańczuk, M. & Syczewski, M. (2022) The Raman spectroscopy and SEM/EDS investigation of the primary sources of microplastics from cosmetics available in Poland. *Chemosphere* 308: 136407. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136407>
- Daly, P., Cai, F., Kubicek, C.P., Jiang, S., Grujic, M., Rahimi, M.J., Sheteiw, M.S., Giles, R., Riaz, A., de Vries, R.P., Akcapinar, G.B., Wei, L. & Druzhinina, I.S. (2021) From lignocellulose to plastics: Knowledge transfer on the degradation approaches by fungi. *Biotechnology Advances* 50: 107770. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107770>
- Dang, H. & Lovell, C.R. (2000) Bacterial Primary Colonization and Early Succession on Surfaces in Marine Waters as Determined by Amplified rRNA Gene Restriction Analysis and Sequence Analysis of 16S rRNA Genes. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 467–475. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.2.467-475.2000>
- Dang, H. & Lovell, C.R. (2015) Microbial Surface Colonization and Biofilm Development in Marine Environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 80: 91–138. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00037-15>
- De Falco, F., Cocca, M., Avella, M. & Thompson, R.C. (2020) Microfiber Release to Water, Via Laundering, and to Air, via Everyday Use: A Comparison between Polyester Clothing with Differing Textile Parameters. *Environmental Science & Technology* 54: 3288–3296. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b06892>
- De Grazia, G., Quadri, L., Majone, M., Morgan-Sagastume, F. & Werker, A. (2017) Influence of temperature on mixed microbial culture polyhydroxyalkanoate production while treating a starch industry wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 5: 5067–5075. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.09.041>
- De Tender, C., Devriese, L.I., Haegeman, A., Maes, S., Vangeyte, J., Cattrijsse, A., Dawyndt, P. & Ruttink, T. (2017) Temporal Dynamics of Bacterial and Fungal Colonization on Plastic Debris in the North Sea. *Environmental Science & Technology* 51: 7350–7360. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00697>
- De Tender, C.A., Devriese, L.I., Haegeman, A., Maes, S., Ruttink, T. & Dawyndt, P. (2015) Bacterial Community Profiling of Plastic Litter in the Belgian Part of the North Sea. *Environmental Science & Technology* 49: 9629–9638. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01093>
- Debroas, D., Domaizon, I., Humbert, J.-F., Jardillier, L., Lepère, C., Oudart, A. & Taïb, N. (2017a) Overview of freshwater microbial eukaryotes diversity: a first analysis of publicly available metabarcoding data. *FEMS Microbiology Ecology* 93. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix023>

- Debroas, D., Mone, A. & Ter Halle, A. (2017b) Plastics in the North Atlantic garbage patch: A boat-microbe for hitchhikers and plastic degraders. *Science of The Total Environment* 599–600: 1222–1232. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.059>
- Delre, A., Goudriaan, M., Hernando-Morales, V., Vaksmaa, A., Ndhlovu, R., Baas, M., Keijzer, E., de Groot, T., Zeghal, E., Egger, M., Röckmann, T. & Niemann, H. (2023) Plastic photodegradation under simulated marine conditions. *Marine Pollution Bulletin* 187. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114544>
- Desforges, J.-P.W., Galbraith, M. & Ross, P.S. (2015) Ingestion of Microplastics by Zooplankton in the Northeast Pacific Ocean. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 69: 320–330. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0172-5>
- Deshpande, P.C., Philis, G., Brattebø, H. & Fet, A.M. (2020) Using Material Flow Analysis (MFA) to generate the evidence on plastic waste management from commercial fishing gears in Norway. *Resources, Conservation & Recycling: X* 5: 100024. <https://doi.org/10.1016/j.rcrx.2019.100024>
- Di Bartolo, A., Infurna, G. & Dintcheva, N.T. (2021) A Review of Bioplastics and Their Adoption in the Circular Economy. *Polymers* 13: 1229. <https://doi.org/10.3390/polym13081229>
- Di Pippo, F., Bocci, V., Amalfitano, S., Crognale, S., Levantesi, C., Pietrelli, L., Di Lisio, V., Martinelli, A. & Rossetti, S. (2023) Microbial colonization patterns and biodegradation of petrochemical and biodegradable plastics in lake waters: insights from a field experiment. *Frontiers in Microbiology* 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1290441>
- Díaz-García, L., Bugg, T.D.H. & Jiménez, D.J. (2020) Exploring the Lignin Catabolism Potential of Soil-Derived Lignocellulolytic Microbial Consortia by a Gene-Centric Metagenomic Approach. *Microbial Ecology* 80: 885–896. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01546-1>
- Dimassi, S.N., Hahladakis, J.N., Yahia, M.N.D., Ahmad, M.I., Sayadi, S. & Al-Ghouti, M.A. (2022) Degradation-fragmentation of marine plastic waste and their environmental implications: A critical review. *Arabian Journal of Chemistry* 15: 104262. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104262>
- Dodhia, M., Rogers, K., Juárez, V., Carreres-Calabuig, J.A., Löscher, C., Tisserand, A., Keulen, N., Riemann, L., Shashoua, Y. & Posth, N. (2023) Microbe-mineral interactions in the Plastisphere: Coastal biogeochemistry and consequences for degradation of plastics. *Frontiers in Marine Science* 10. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1134815>
- Dudek, K.L., Cruz, B.N., Polidoro, B. & Neuer, S. (2020) Microbial colonization of microplastics in the Caribbean Sea. *Limnology and Oceanography Letters* 5: 5–17. <https://doi.org/10.1002/lol2.10141>
- Dussud, C., Meistertzheim, A.L., Conan, P., Pujo-Pay, M., George, M., Fabre, P., Coudane, J., Higgs, P., Elineau, A., Pedrotti, M.L., Gorsky, G. & Ghiglione, J.F. (2018) Evidence of niche partitioning among bacteria living on plastics, organic particles and surrounding seawaters. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)* 236: 807–816. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.027>

## E

- Eriksen, M., Lebreton, L.C.M., Carson, H.S., Thiel, M., Moore, C.J., Borerro, J.C., Galgani, F., Ryan, P.G. & Reisser, J. (2014) Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. H. G. Dam (ed.). *PLoS ONE* 9: e111913. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>
- Eriksen, M., Maximenko, N., Thiel, M., Cummins, A., Lattin, G., Wilson, S., Hafner, J., Zellers, A. & Rifman, S. (2013) Plastic pollution in the South Pacific subtropical gyre. *Marine Pollution Bulletin* 68: 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.12.021>

Erni-Cassola, G., Zadjelovic, V., Gibson, M.I. & Christie-Oleza, J.A. (2019) Distribution of plastic polymer types in the marine environment; A meta-analysis. *Journal of Hazardous Materials* 369: 691–698. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.067>

European bioplastics (2022) EUBP\_Facts\_and\_figures. Available from: [https://docs.european-bioplastics.org/publications/EUBP\\_Facts\\_and\\_figures.pdf](https://docs.european-bioplastics.org/publications/EUBP_Facts_and_figures.pdf) (October 3, 2023)

## F

Fan, X., Zou, Y., Geng, N., Liu, J., Hou, J., Li, D., Yang, C. & Li, Y. (2021) Investigation on the adsorption and desorption behaviors of antibiotics by degradable MPs with or without UV ageing process. *Journal of Hazardous Materials* 401: 123363. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123363>

Fauvelle, V., Garel, M., Tamburini, C., Nerini, D., Castro-Jiménez, J., Schmidt, N., Paluselli, A., Fahs, A., Papillon, L., Booth, A.M. & Sempéré, R. (2021) Organic additive release from plastic to seawater is lower under deep-sea conditions. *Nature Communications* 12: 4426. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24738-w>

Ferreira, F.V., Pinheiro, I.F., Mariano, M., Cividanes, L.S., Costa, J.C.M., Nascimento, N.R., Kimura, S.P.R., Neto, J.C.M. & Lona, L.M.F. (2019) Environmentally friendly polymer composites based on PBAT reinforced with natural fibers from the amazon forest. *Polymer Composites* 40: 3351–3360. <https://doi.org/10.1002/pc.25196>

Ferrero, L., Scibetta, L., Markuszewski, P., Mazurkiewicz, M., Drozdowska, V., Makuch, P., Jutrzenka-Trzebiatowska, P., Zaleska-Medynska, A., Andò, S., Saliu, F., Nilsson, E.D. & Bolzacchini, E. (2022) Airborne and marine microplastics from an oceanographic survey at the Baltic Sea: An emerging role of air-sea interaction? *Science of The Total Environment* 824: 153709. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153709>

Florio Furno, M., Poli, A., Ferrero, D., Tardelli, F., Manzini, C., Oliva, M., Pretti, C., Campani, T., Casini, S., Fossi, M.C., Varese, G.C. & Prigione, V. (2022) The Culturable Mycobiota of Sediments and Associated Microplastics: From a Harbor to a Marine Protected Area, a Comparative Study. *Journal of Fungi* 8: 927. <https://doi.org/10.3390/jof8090927>

Fossi, M., Panti, C., Bains, M. & Lavers, J. (2018) A Review of Plastic-Associated Pressures: Cetaceans of the Mediterranean Sea and Eastern Australian Shearwaters as Case Studies. *Frontiers in Marine Science* 5. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00173>

Frère, L., Maignien, L., Chalopin, M., Huvet, A., Rinnert, E., Morrison, H., Kerninon, S., Cassone, A.-L., Lambert, C., Reveillaud, J. & Paul-Pont, I. (2018) Microplastic bacterial communities in the Bay of Brest: Influence of polymer type and size. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)* 242: 614–625. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.023>

Fried, J.R. (2014) *Polymer science and technology*. Third edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. 663 pp.

## G

Gambarini, V., Pantos, O., Kingsbury, J.M., Weaver, L., Handley, K.M. & Lear, G. (2021) Phylogenetic Distribution of Plastic-Degrading Microorganisms. *mSystems* 6: e01112-20. <https://doi.org/10.1128/mSystems.01112-20>

Gao, R., Liu, R. & Sun, C. (2022a) A marine fungus *Alternaria alternata* FB1 efficiently degrades polyethylene. *Journal of Hazardous Materials* 431: 128617. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128617>

Gao, R., Liu, R. & Sun, C. (2022b) A marine fungus *Alternaria alternata* FB1 efficiently degrades polyethylene. *Journal of Hazardous Materials* 431: 128617. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128617>

Garcia, J.M. & Robertson, M.L. (2017) The future of plastics recycling. *Science* 358: 870–872. <https://doi.org/10.1126/science.aag0324>

- Gaston, S.A. & Tulve, N.S. (2019) Urinary phthalate metabolites and metabolic syndrome in U.S. adolescents: Cross-sectional results from the National Health and Nutrition Examination Survey (2003–2014) data. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 222: 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.09.005>
- Geyer, R., Jambeck, J.R. & Law, K.L. (2017) Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances* 3: e1700782. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Ghiglione, J.-F., Barbe, V., Bruzard, S., Burgaud, G., Cachot, J., Eyheraguibel, B., Lartaud, F., Ludwig, W., Meistertzheim, A.-L., Paul-Pont, I., Pesant, S., ter Halle, A., Thiebeauld, O., Ghiglione, J.F., Philip, L., Odobel, C., Pandin, C., Pujo-Pay, M., Conan, P., Luckas, N., Barbe, V., Wincker, P., Bruzard, S., Kedzierski, M., Palazot, M., Soccalingame, L., Burgaud, G., Philippe, A., Cachot, J., Morin, B., Dusacre, E., Clérandeau, C., Lefebvre, C., Eyheraguibel, B., Lartaud, F., Ludwig, W., de Madron, X.D., Weiss, L., Meistertzheim, A.L., Calves, I., Lebaron, K., Lavergne, E., Paul-Pont, I., Huvet, A., Dubreuil, C., Pesant, S., ter Halle, A., Albignac, M., Thiebeauld, O., Crenn, K., Gassane, T., Merakeb, L., Bauvois, C., Galgani, F., Gerigny, O., Pedrotti, M.L., Gorsky, G., Lombard, F., Alligant, S., Lacroix, C., Navarro, L., Sperandio, B., Diémé, B., Bowler, C., Troublé, R., Hentinger, R., Abreu, A., Thomas, M., Bourdreux, M., Schramm, J., Moulin, C., Bernollin, E., Hertau, M., Audrain, S., Bin, N., Tournon, Y., Boulon, L., Aurat, F., Blijdorp, L., Pire, C., Bin, S., Gicquel, C., Oriot, M., & the Mission Tara Microplastics consortium (2023) Mission Tara Microplastics: a holistic set of protocols and data resources for the field investigation of plastic pollution along the land-sea continuum in Europe. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26883-9>
- Ghiglione, J.F., Mevel, G., Pujo-Pay, M., Mousseau, L., Lebaron, P. & Goutx, M. (2007) Diel and Seasonal Variations in Abundance, Activity, and Community Structure of Particle-Attached and Free-Living Bacteria in NW Mediterranean Sea. *Microbial Ecology* 54: 217–231. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9189-7>
- Gilman, E., Musyl, M., Suuronen, P., Chaloupka, M., Gorgin, S., Wilson, J. & Kuczynski, B. (2021) Highest risk abandoned, lost and discarded fishing gear. *Scientific Reports* 11: 7195. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86123-3>
- Gkoutselis, G., Rohrbach, S., Harjes, J., Brachmann, A., Horn, M.A. & Rambold, G. (2024) Plastiphily is linked to generic virulence traits of important human pathogenic fungi. *Communications Earth & Environment* 5: 1–18. <https://doi.org/10.1038/s43247-023-01127-3>
- Gkoutselis, G., Rohrbach, S., Harjes, J., Brachmann, A., Marcus, H. & Rambold, G. (2022) Plastiphily and its link to generic virulence in fungal human pathogens makes microplastics a global health factor. *CERN European Organization for Nuclear Research - Zenodo*.
- Gkoutselis, G., Rohrbach, S., Harjes, J., Obst, M., Brachmann, A., Horn, M.A. & Rambold, G. (2021) Microplastics accumulate fungal pathogens in terrestrial ecosystems. *Scientific Reports* 11: 13214. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92405-7>
- Gola, D., Kumar Tyagi, P., Arya, A., Chauhan, N., Agarwal, M., Singh, S.K. & Gola, S. (2021) The impact of microplastics on marine environment: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* 16: 100552. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2021.100552>
- Gong, W. & Marchetti, A. (2019) Estimation of 18S Gene Copy Number in Marine Eukaryotic Plankton Using a Next-Generation Sequencing Approach. *Frontiers in Marine Science* 6.
- González-Fernández, D., Roebroek, C.T.J., Laufkötter, C., Cózar, A. & van Emmerik, T.H.M. (2023) Diverging estimates of river plastic input to the ocean. *Nature Reviews Earth & Environment* 4: 424–426. <https://doi.org/10.1038/s43017-023-00448-3>
- Good, T.P., June, J.A., Etnier, M.A. & Broadhurst, G. (2010) Derelict fishing nets in Puget Sound and the Northwest Straits: Patterns and threats to marine fauna. *Marine Pollution Bulletin* 60: 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.09.005>

- Goodman, K.E., Hare, J.T., Khamis, Z.I., Hua, T. & Sang, Q.-X.A. (2021) Exposure of Human Lung Cells to Polystyrene Microplastics Significantly Retards Cell Proliferation and Triggers Morphological Changes. *Chemical Research in Toxicology* 34: 1069–1081. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.0c00486>
- Gregory, M.R. (2009) Environmental implications of plastic debris in marine settings—entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364: 2013–2025. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0265>
- Guerranti, C., Martellini, T., Perra, G., Scopetani, C. & Cincinelli, A. (2019) Microplastics in cosmetics: Environmental issues and needs for global bans. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 68: 75–79. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.03.007>

## H

- Harrison, J.P., Hoellein, T.J., Sapp, M., Tagg, A.S., Ju-Nam, Y. & Ojeda, J.J. (2018) Microplastic-Associated Biofilms: A Comparison of Freshwater and Marine Environments. In: M. Wagner & S. Lambert (eds.) *Freshwater Microplastics : Emerging Environmental Contaminants?*. The Handbook of Environmental Chemistry. Springer International Publishing, Cham, pp. 181–201.
- Harrison, J.P., Schratzberger, M., Sapp, M. & Osborn, A.M. (2014) Rapid bacterial colonization of low-density polyethylene microplastics in coastal sediment microcosms. *BMC Microbiology* 14: 232. <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0232-4>
- Harvey, B.P., Kerfahi, D., Jung, Y., Shin, J.-H., Adams, J.M. & Hall-Spencer, J.M. (2020) Ocean acidification alters bacterial communities on marine plastic debris. *Marine Pollution Bulletin* 161: 111749. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111749>
- Hasan, N.A., Grim, C.J., Lipp, E.K., Rivera, I.N.G., Chun, J., Haley, B.J., Taviani, E., Choi, S.Y., Hoq, M., Munk, A.C., Brettin, T.S., Bruce, D., Challacombe, J.F., Detter, J.C., Han, C.S., Eisen, J.A., Huq, A. & Colwell, R.R. (2015) Deep-sea hydrothermal vent bacteria related to human pathogenic *Vibrio* species. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112: E2813–E2819. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503928112>
- Hassett, B.T., Ducluzeau, A.-L.L., Collins, R.E. & Gradinger, R. (2017) Spatial distribution of aquatic marine fungi across the western Arctic and sub-arctic. *Environmental Microbiology* 19: 475–484. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13371>
- Hassett, B.T. & Gradinger, R. (2016) Chytrids dominate arctic marine fungal communities. *Environmental Microbiology* 18: 2001–2009. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13216>
- Hassett, B.T., Vonnahme, T.R., Peng, X., Jones, E.B.G. & Heuzé, C. (2020) Global diversity and geography of planktonic marine fungi. *Botanica Marina* 63: 121–139. <https://doi.org/10.1515/bot-2018-0113>
- Hermabessiere, L., Dehaut, A., Paul-Pont, I., Lacroix, C., Jezequel, R., Soudant, P. & Duflos, G. (2017) Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review. *Chemosphere* 182: 781–793. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.096>
- Hernandez, L.M., Xu, E.G., Larsson, H.C.E., Tahara, R., Maisuria, V.B. & Tufenkji, N. (2019) Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea. *Environmental Science & Technology* 53: 12300–12310. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02540>
- Hernandez, L.M., Yousefi, N. & Tufenkji, N. (2017) Are There Nanoplastics in Your Personal Care Products? *Environmental Science & Technology Letters* 4: 280–285. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.7b00187>
- Ho, W.-K. & Leung, K.S.-Y. (2019) Sorption and desorption of organic UV filters onto microplastics in single and multi-solute systems. *Environmental Pollution* 254: 113066. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113066>

- Hoellein, T., Rojas, M., Pink, A., Gasior, J. & Kelly, J. (2014) Anthropogenic Litter in Urban Freshwater Ecosystems: Distribution and Microbial Interactions. *PLOS ONE* 9: e98485. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098485>
- Horton, A.A. (2022) *Plastic Pollution In The Global Ocean*. World Scientific. 410 pp.
- Hu, J., Ye, F., Zhang, S., Li, H., Bao, Q., Gan, J., Ye, Q. & Wang, W. (2023) Multi-dimensional visualization of ingestion, biological effects and interactions of microplastics and a representative POP in edible jellyfish. *Environment International* 178: 108028. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.108028>
- Hüffer, T., Weniger, A.-K. & Hofmann, T. (2018) Sorption of organic compounds by aged polystyrene microplastic particles. *Environmental Pollution* 236: 218–225. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.022>

## I

- IfBB - Institute for bioplastics and biocomposites (2022) Biopolymers Facts Statistics. Available from: [https://www.ifbb-hannover.de/files/IfBB/downloads/faltblaetter\\_broschueren/f+s/Biopolymers-Facts-Statistics-einseitig-2022.pdf](https://www.ifbb-hannover.de/files/IfBB/downloads/faltblaetter_broschueren/f+s/Biopolymers-Facts-Statistics-einseitig-2022.pdf) (October 3, 2023)
- Isobe, A., Azuma, T., Cordova, M.R., Cózar, A., Galgani, F., Hagita, R., Kanhai, L.D., Imai, K., Iwasaki, S., Kako, S., Kozlovskii, N., Lusher, A.L., Mason, S.A., Michida, Y., Mituhasi, T., Morii, Y., Mukai, T., Popova, A., Shimizu, K., Tokai, T., Uchida, K., Yagi, M. & Zhang, W. (2021) A multilevel dataset of microplastic abundance in the world's upper ocean and the Laurentian Great Lakes. *Microplastics and Nanoplastics* 1: 16. <https://doi.org/10.1186/s43591-021-00013-z>
- Isobe, A., Uchiyama-Matsumoto, K., Uchida, K. & Tokai, T. (2017) Microplastics in the Southern Ocean. *Marine Pollution Bulletin* 114: 623–626. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.09.037>

## J

- Jacquín, J., Cheng, J., Odobel, C., Pandin, C., Conan, P., Pujo-Pay, M., Barbe, V., Meistertzheim, A.-L. & Ghiglione, J.-F. (2019) Microbial Ecotoxicology of Marine Plastic Debris: A Review on Colonization and Biodegradation by the “Plastisphere.” *Frontiers in Microbiology* 10: 865. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00865>
- Jambeck, J.R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R. & Law, K.L. (2015) Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347: 768–771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>
- Janakiram, R., Keerthivasan, R., Janani, R., Ramasundaram, S., Martin, M.V., Venkatesan, R., Ramana Murthy, M.V. & Sudhakar, T. (2023) Seasonal distribution of microplastics in surface waters of the Northern Indian Ocean. *Marine Pollution Bulletin* 190: 114838. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114838>
- Jiménez, D.J., Öztürk, B., Wei, R., Bugg, T.D., Amaya Gomez, C.V., Salcedo Galan, F., Castro-Mayorga, J.L., Saldarriaga, J.F. & Tarazona, N.A. (2022) Merging Plastics, Microbes, and Enzymes: Highlights from an International Workshop. *Applied and Environmental Microbiology* 88: e00721-22. <https://doi.org/10.1128/aem.00721-22>
- Jin, Y., Lenzen, M., Montoya, A., Laycock, B., Yuan, Z., Lant, P., Li, M., Wood, R. & Malik, A. (2023) Greenhouse gas emissions, land use and employment in a future global bioplastics economy. *Resources, Conservation and Recycling* 193: 106950. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2023.106950>
- Jones, E.B.G., Pang, K.-L., Abdel-Wahab, M.A., Scholz, B., Hyde, K.D., Boekhout, T., Ebel, R., Rateb, M.E., Henderson, L., Sakayaroj, J., Suetrong, S., Dayarathne, M.C., Kumar, V., Raghukumar, S., Sridhar, K.R., Bahkali, A.H.A., Gleason, F.H. & Norphanphoun, C. (2019) An online resource for marine fungi. *Fungal Diversity* 96: 347–433. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00426-5>

Jones, E.B.G., Suetrong, S., Sakayaroj, J., Bahkali, A.H., Abdel-Wahab, M.A., Boekhout, T. & Pang, K.-L. (2015) Classification of marine Ascomycota, Basidiomycota, Blastocladiomycota and Chytridiomycota. *Fungal Diversity* 73: 1–72. <https://doi.org/10.1007/s13225-015-0339-4>

## K

Kahlert, S. & Bening, C.R. (2020) Plastics recycling after the global pandemic: resurgence or regression? *Resources, Conservation, and Recycling* 160: 104948. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2020.104948>

Kaiser, D., Kowalski, N. & Waniek, J.J. (2017) Effects of biofouling on the sinking behavior of microplastics. *Environmental Research Letters* 12: 124003. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aa8e8b>

Kane, I.A. & Clare, M.A. (2019) Dispersion, Accumulation, and the Ultimate Fate of Microplastics in Deep-Marine Environments: A Review and Future Directions. *Frontiers in Earth Science* 7.

Kanhai, L.D.K., Gårdfeldt, K., Lyashevskaya, O., Hassellöv, M., Thompson, R.C. & O'Connor, I. (2018) Microplastics in sub-surface waters of the Arctic Central Basin. *Marine Pollution Bulletin* 130: 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.03.011>

Karami, A., Golieskardi, A., Choo, C.K., Larat, V., Karbalaei, S. & Salamatinia, B. (2018) Microplastic and mesoplastic contamination in canned sardines and sprats. *Science of The Total Environment* 612: 1380–1386. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.005>

Karami, A., Golieskardi, A., Keong Choo, C., Larat, V., Galloway, T.S. & Salamatinia, B. (2017) The presence of microplastics in commercial salts from different countries. *Scientific Reports* 7: 46173. <https://doi.org/10.1038/srep46173>

Karan, H., Funk, C., Grabert, M., Oey, M. & Hankamer, B. (2019) Green Bioplastics as Part of a Circular Bioeconomy. *Trends in Plant Science* 24: 237–249. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.11.010>

Kaya, A.T., Yurtsever, M. & Bayraktar, S.Ç. (2018) Ubiquitous exposure to microfiber pollution in the air. *The European Physical Journal Plus* 133: 488. <https://doi.org/10.1140/epjp/i2018-12372-7>

Kelly, M.R., Whitworth, P., Jamieson, A. & Burgess, J.G. (2022) Bacterial colonisation of plastic in the Rockall Trough, North-East Atlantic: An improved understanding of the deep-sea plastisphere. *Environmental Pollution* 305: 119314. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119314>

Keswani, A., Oliver, D.M., Gutierrez, T. & Quilliam, R.S. (2016) Microbial hitchhikers on marine plastic debris: Human exposure risks at bathing waters and beach environments. *Marine Environmental Research* 118: 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.04.006>

Kesy, K., Hentzsch, A., Klaeger, F., Oberbeckmann, S., Mothes, S. & Labrenz, M. (2017) Fate and stability of polyamide-associated bacterial assemblages after their passage through the digestive tract of the blue mussel *Mytilus edulis*. *Marine Pollution Bulletin* 125: 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.08.016>

Kesy, K., Oberbeckmann, S., Kreikemeyer, B. & Labrenz, M. (2019) Spatial Environmental Heterogeneity Determines Young Biofilm Assemblages on Microplastics in Baltic Sea Mesocosms. *Frontiers in Microbiology* 10: 1665. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01665>

Kettner, M.T., Oberbeckmann, S., Labrenz, M. & Grossart, H.-P. (2019a) The Eukaryotic Life on Microplastics in Brackish Ecosystems. *Frontiers in Microbiology* 10.

Kettner, M.T., Oberbeckmann, S., Labrenz, M. & Grossart, H.-P. (2019b) The Eukaryotic Life on Microplastics in Brackish Ecosystems. *Frontiers in Microbiology* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00538>

- Kettner, M.T., Rojas-Jimenez, K., Oberbeckmann, S., Labrenz, M. & Grossart, H.-P. (2017) Microplastics alter composition of fungal communities in aquatic ecosystems: Fungal communities on microplastics. *Environmental Microbiology* 19: 4447–4459. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13891>
- Kim, S.H., Lee, J.W., Kim, J.S., Lee, W., Park, M.S. & Lim, Y.W. (2022) Plastic-inhabiting fungi in marine environments and PCL degradation activity. *Antonie van Leeuwenhoek* 115: 1379–1392. <https://doi.org/10.1007/s10482-022-01782-0>
- Kirstein, I.V., Kirmizi, S., Wichels, A., Garin-Fernandez, A., Erler, R., Löder, M. & Gerdt, G. (2016) Dangerous hitchhikers? Evidence for potentially pathogenic *Vibrio* spp. on microplastic particles. *Marine Environmental Research* 120: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.07.004>
- Kirstein, I.V., Wichels, A., Gullans, E., Krohne, G. & Gerdt, G. (2019) The Plasticsphere – Uncovering tightly attached plastic “specific” microorganisms. *PLoS ONE* 14: e0215859. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215859>
- Kirstein, I.V., Wichels, A., Krohne, G. & Gerdt, G. (2018) Mature biofilm communities on synthetic polymers in seawater - Specific or general? *Marine Environmental Research* 142: 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.09.028>
- Koh, J., Bairoliya, S., Salta, M., Cho, Z.T., Fong, J., Neo, M.L., Cragg, S. & Cao, B. (2023) Sediment-driven plasticsphere community assembly on plastic debris in tropical coastal and marine environments. *Environment International* 179: 108153. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.108153>
- Kong, F., Xu, X., Xue, Y., Gao, Y., Zhang, L., Wang, L., Jiang, S. & Zhang, Q. (2021) Investigation of the Adsorption of Sulfamethoxazole by Degradable Microplastics Artificially Aged by Chemical Oxidation. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 81: 155–165. <https://doi.org/10.1007/s00244-021-00856-w>
- Konwar, B.K. (2023) *Bacterial Biopolymers*. CRC Press. 224 pp.
- Kosuth, M., Mason, S.A. & Wattenberg, E.V. (2018) Anthropogenic contamination of tap water, beer, and sea salt. *PLoS ONE* 13: e0194970. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194970>
- Krause, S., Molari, M., Gorb, E.V., Gorb, S.N., Kossel, E. & Haeckel, M. (2020) Persistence of plastic debris and its colonization by bacterial communities after two decades on the abyssal seafloor. *Scientific Reports* 10: 9484. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66361-7>
- Kühn, S. & van Franeker, J.A. (2020) Quantitative overview of marine debris ingested by marine megafauna. *Marine Pollution Bulletin* 151: 110858. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110858>
- Kumar A., G., K., A., M., H., K., S. & G., D. (2020) Review on plastic wastes in marine environment – Biodegradation and biotechnological solutions. *Marine Pollution Bulletin* 150: 110733. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110733>
- Kumar, M., Ghosh, P., Khosla, K. & Thakur, I.S. (2018) Recovery of polyhydroxyalkanoates from municipal secondary wastewater sludge. *Bioresource Technology* 255: 111–115. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.031>
- Kumar, M., Gupta, A. & Thakur, I.S. (2016) Carbon dioxide sequestration by chemolithotrophic oleaginous bacteria for production and optimization of polyhydroxyalkanoate. *Bioresource Technology* 213: 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.038>
- Kumar, M., Singhal, A., Verma, P.K. & Thakur, I.S. (2017) Production and Characterization of Polyhydroxyalkanoate from Lignin Derivatives by *Pandoraea* sp. ISTKB. *ACS Omega* 2: 9156–9163. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01615>



## L

- Lacerda, A.L. d. F., Proietti, M.C., Secchi, E.R. & Taylor, J.D. (2020) Diverse groups of fungi are associated with plastics in the surface waters of the Western South Atlantic and the Antarctic Peninsula. *Molecular Ecology* 29: 1903–1918. <https://doi.org/10.1111/mec.15444>
- Lacerda, A.L. d F., Rodrigues, L. dos S., van Sebille, E., Rodrigues, F.L., Ribeiro, L., Secchi, E.R., Kessler, F. & Proietti, M.C. (2019) Plastics in sea surface waters around the Antarctic Peninsula. *Scientific Reports* 9: 3977. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40311-4>
- Lacerda, A.L. d. F., Taylor, J.D., Rodrigues, L. d. S., Kessler, F., Secchi, E. & Proietti, M.C. (2022) Floating plastics and their associated biota in the Western South Atlantic. *Science of The Total Environment* 805: 150186. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150186>
- Laffet, L., Joly, M., Carles, L., Donnadiou-Bernard, F., Romani, A.M. & Artigas, J. (2023) Comparison of microbial colonization between natural and plastic substrata in a polluted watershed. *FEMS Microbiology Ecology* 99: fiad062. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiad062>
- Lagarde, F., Olivier, O., Zanella, M., Daniel, P., Hiard, S. & Caruso, A. (2016) Microplastic interactions with freshwater microalgae: Hetero-aggregation and changes in plastic density appear strongly dependent on polymer type. *Environmental Pollution* 215: 331–339. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.006>
- Laist, D.W. (1997) Impacts of Marine Debris: Entanglement of Marine Life in Marine Debris Including a Comprehensive List of Species with Entanglement and Ingestion Records. In: J. M. Coe & D. B. Rogers (eds.) *Marine Debris: Sources, Impacts, and Solutions*. Springer Series on Environmental Management. Springer, New York, NY, pp. 99–139.
- Lambert, S., Scherer, C. & Wagner, M. (2017) Ecotoxicity testing of microplastics: Considering the heterogeneity of physicochemical properties. *Integrated Environmental Assessment and Management* 13: 470–475. <https://doi.org/10.1002/ieam.1901>
- Lambert, S. & Wagner, M. (2016) Formation of microscopic particles during the degradation of different polymers. *Chemosphere* 161: 510–517. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.042>
- Lange, L., Barrett, K., Pilgaard, B., Gleason, F. & Tsang, A. (2019) Enzymes of early-diverging, zoosporic fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology* 103: 6885–6902. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09983-w>
- Latva, M., Dedman, C.J., Wright, R.J., Polin, M. & Christie-Oleza, J.A. (2022) Microbial pioneers of plastic colonisation in coastal seawaters. *Marine Pollution Bulletin* 179: 113701. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113701>
- Lau, W.W.Y., Shiran, Y., Bailey, R.M., Cook, E., Stuchtey, M.R., Koskella, J., Velis, C.A., Godfrey, L., Boucher, J., Murphy, M.B., Thompson, R.C., Jankowska, E., Castillo Castillo, A., Pilditch, T.D., Dixon, B., Koerselman, L., Kosior, E., Favoino, E., Gutberlet, J., Baulch, S., Atreya, M.E., Fischer, D., He, K.K., Petit, M.M., Sumaila, U.R., Neil, E., Bernhofen, M.V., Lawrence, K. & Palardy, J.E. (2020) Evaluating scenarios toward zero plastic pollution. *Science (New York, N.Y.)* 369: 1455–1461. <https://doi.org/10.1126/science.aba9475>
- Law, K.L., Morét-Ferguson, S., Maximenko, N.A., Proskurowski, G., Peacock, E.E., Hafner, J. & Reddy, C.M. (2010) Plastic Accumulation in the North Atlantic Subtropical Gyre. *Science* 329: 1185–1188. <https://doi.org/10.1126/science.1192321>
- Law, K.L., Morét-Ferguson, S.E., Goodwin, D.S., Zettler, E.R., DeForce, E., Kukulka, T. & Proskurowski, G. (2014) Distribution of Surface Plastic Debris in the Eastern Pacific Ocean from an 11-Year Data Set. *Environmental Science & Technology* 48: 4732–4738. <https://doi.org/10.1021/es4053076>

- Lear, G., Kingsbury, J.M., Franchini, S., Gambarini, V., Maday, S.D.M., Wallbank, J.A., Weaver, L. & Pantos, O. (2021) Plastics and the microbiome: impacts and solutions. *Environmental Microbiome* 16: 2. <https://doi.org/10.1186/s40793-020-00371-w>
- Lear, L., Padfield, D., Dowsett, T., Jones, M., Kay, S., Hayward, A. & Vos, M. (2022) Bacterial colonisation dynamics of household plastics in a coastal environment. *Science of The Total Environment* 838: 156199. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156199>
- Lebreton, L., Slat, B., Ferrari, F., Sainte-Rose, B., Aitken, J., Marthouse, R., Hajbane, S., Cunsolo, S., Schwarz, A., Levivier, A., Noble, K., Debeljak, P., Maral, H., Schoeneich-Argent, R., Brambini, R. & Reisser, J. (2018) Evidence that the Great Pacific Garbage Patch is rapidly accumulating plastic. *Scientific Reports* 8: 4666. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22939-w>
- Lee, B. & Park, M.G. (2022) Drifting marine plastics as new ecological habitats for harmful eukaryotic microbial communities in Jeju Strait, Korea. *Frontiers in Marine Science* 9.
- Lee, J., Hong, S., Song, Y.K., Hong, S.H., Jang, Y.C., Jang, M., Heo, N.W., Han, G.M., Lee, M.J., Kang, D. & Shim, W.J. (2013) Relationships among the abundances of plastic debris in different size classes on beaches in South Korea. *Marine Pollution Bulletin* 77: 349–354. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.08.013>
- Lemonnier, C., Chalopin, M., Huvet, A., Le Roux, F., Labreuche, Y., Petton, B., Maignien, L., Paul-Pont, I. & Reveillaud, J. (2022) Time-series incubations in a coastal environment illuminates the importance of early colonizers and the complexity of bacterial biofilm dynamics on marine plastics. *Environmental Pollution* 312: 119994. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119994>
- Leslie, H.A., van Velzen, M.J.M., Brandsma, S.H., Vethaak, A.D., Garcia-Vallejo, J.J. & Lamoree, M.H. (2022) Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environment International* 163: 107199. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107199>
- Li, J., Lusher, A.L., Rotchell, J.M., Deudero, S., Turra, A., Bråte, I.L.N., Sun, C., Shahadat Hossain, M., Li, Q., Kolandhasamy, P. & Shi, H. (2019a) Using mussel as a global bioindicator of coastal microplastic pollution. *Environmental Pollution* 244: 522–533. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.032>
- Li, J., Shan, E., Zhao, J., Teng, J. & Wang, Q. (2023) The factors influencing the vertical transport of microplastics in marine environment: A review. *Science of The Total Environment* 870: 161893. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161893>
- Li, J., Zhang, K. & Zhang, H. (2018) Adsorption of antibiotics on microplastics. *Environmental Pollution* 237: 460–467. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.050>
- Li, W., Zhang, Y., Wu, N., Zhao, Z., Xu, W., Ma, Y. & Niu, Z. (2019b) Colonization Characteristics of Bacterial Communities on Plastic Debris Influenced by Environmental Factors and Polymer Types in the Haihe Estuary of Bohai Bay, China. *Environmental Science & Technology* 53: 10763–10773. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03659>
- Li, W.C., Tse, H.F. & Fok, L. (2016) Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects. *Science of The Total Environment* 566–567: 333–349. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.084>
- Lin, S., Zhang, H., Wang, C., Su, X.-L., Song, Y., Wu, P., Yang, Z., Wong, M.-H., Cai, Z. & Zheng, C. (2022) Metabolomics Reveal Nanoplastic-Induced Mitochondrial Damage in Human Liver and Lung Cells. *Environmental Science & Technology* 56: 12483–12493. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c03980>
- Liu, L., Xu, M., Ye, Y. & Zhang, B. (2022a) On the degradation of (micro)plastics: Degradation methods, influencing factors, environmental impacts. *Science of The Total Environment* 806: 151312. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151312>

- Liu, S., Le Mauff, F., Sheppard, D.C. & Zhang, S. (2022b) Filamentous fungal biofilms: Conserved and unique aspects of extracellular matrix composition, mechanisms of drug resistance and regulatory networks in *Aspergillus fumigatus*. *npj Biofilms and Microbiomes* 8: 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41522-022-00347-3>
- Liu, X., Sun, P., Qu, G., Jing, J., Zhang, T., Shi, H. & Zhao, Y. (2021) Insight into the characteristics and sorption behaviors of aged polystyrene microplastics through three type of accelerated oxidation processes. *Journal of Hazardous Materials* 407: 124836. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124836>
- Lobelle, D. & Cunliffe, M. (2011) Early microbial biofilm formation on marine plastic debris. *Marine Pollution Bulletin* 62: 197–200. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.10.013>
- Lohmann, R. (2017) Microplastics are not important for the cycling and bioaccumulation of organic pollutants in the oceans—but should microplastics be considered POPs themselves? *Integrated Environmental Assessment and Management* 13: 460–465. <https://doi.org/10.1002/ieam.1914>
- Lu, H., Diaz, D.J., Czarnecki, N.J., Zhu, C., Kim, W., Shroff, R., Acosta, D.J., Alexander, B.R., Cole, H.O., Zhang, Y., Lynd, N.A., Ellington, A.D. & Alper, H.S. (2022) Machine learning-aided engineering of hydrolases for PET depolymerization. *Nature* 604: 662–667. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04599-z>
- Lu, W., Li, X., Wang, S., Tu, C., Qiu, L., Zhang, H., Zhong, C., Li, S., Liu, Y., Liu, J. & Zhou, Y. (2023) New Evidence of Microplastics in the Lower Respiratory Tract: Inhalation through Smoking. *Environmental Science & Technology* 57: 8496–8505. <https://doi.org/10.1021/acs.est.3c00716>
- Luo, Y.Y., Not, C. & Cannicci, S. (2021) Mangroves as unique but understudied traps for anthropogenic marine debris: A review of present information and the way forward. *Environmental pollution (Barking, Essex)* 271: 116291. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116291>
- Lynch, J.M. (2018) Quantities of Marine Debris Ingested by Sea Turtles: Global Meta-Analysis Highlights Need for Standardized Data Reporting Methods and Reveals Relative Risk. *Environmental Science & Technology* 52: 12026–12038. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02848>
- ## M
- Ma, L.-J., van der Does, H.C., Borkovich, K.A., Coleman, J.J., Daboussi, M.-J., Di Pietro, A., Dufresne, M., Freitag, M., Grabherr, M., Henrissat, B., Houterman, P.M., Kang, S., Shim, W.-B., Woloshuk, C., Xie, X., Xu, J.-R., Antoniw, J., Baker, S.E., Bluhm, B.H., Breakspear, A., Brown, D.W., Butchko, R.A.E., Chapman, S., Coulson, R., Coutinho, P.M., Danchin, E.G.J., Diener, A., Gale, L.R., Gardiner, D.M., Goff, S., Hammond-Kosack, K.E., Hilburn, K., Hua-Van, A., Jonkers, W., Kazan, K., Kodira, C.D., Koehrsen, M., Kumar, L., Lee, Y.-H., Li, L., Manners, J.M., Miranda-Saavedra, D., Mukherjee, M., Park, G., Park, J., Park, S.-Y., Proctor, R.H., Regev, A., Ruiz-Roldan, M.C., Sain, D., Sakthikumar, S., Sykes, S., Schwartz, D.C., Turgeon, B.G., Wapinski, I., Yoder, O., Young, S., Zeng, Q., Zhou, S., Galagan, J., Cuomo, C.A., Kistler, H.C. & Rep, M. (2010) Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. *Nature* 464: 367–373. <https://doi.org/10.1038/nature08850>
- Ma, M., Wu, Z., An, L., Xu, Q., Wang, H., Zhang, Y. & Kang, Y. (2023) Microplastics transferring from abiotic to biotic in aquatic ecosystem: A mini review. *Science of The Total Environment* 893: 164686. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164686>
- MacArthur, D.E., Waughray, D. & Stuchtey, M.R. (2016) The New Plastics Economy: Rethinking the future of plastics | World Economic Forum. Available from: <https://www.weforum.org/reports/the-new-plastics-economy-rethinking-the-future-of-plastics/> (August 6, 2023)
- MacLeod, M., Arp, H.P.H., Tekman, M.B. & Jahnke, A. (2021) The global threat from plastic pollution. *Science* 373: 61–65. <https://doi.org/10.1126/science.abg5433>

- Madhavan Nampoothiri, K., Nair, N.R. & John, R.P. (2010) An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. *Bioresource Technology* 101: 8493–8501. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.092>
- Mahmud, T., Sabo, I.A., Lambu, Z.N., Danlami, D. & Shehu, A.A. (2022) Hydrocarbon Degradation Potentials of Fungi: A Review. *Journal of Environmental Bioremediation and Toxicology* 5: 50–56. <https://doi.org/10.54987/jebat.v5i1.681>
- Mamun, A.A., Prasetya, T.A.E., Dewi, I.R. & Ahmad, M. (2023) Microplastics in human food chains: Food becoming a threat to health safety. *Science of The Total Environment* 858: 159834. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159834>
- Markic, A., Gaertner, J.-C., Gaertner-Mazouni, N. & Koelmans, A.A. (2020) Plastic ingestion by marine fish in the wild. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 50: 657–697. <https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1631990>
- Marturano, V., Cerruti, P. & Ambrogi, V. (2017) Polymer additives. *Physical Sciences Reviews* 2. <https://doi.org/10.1515/psr-2016-0130>
- Matjašič, T., Simčič, T., Medvešček, N., Bajt, O., Dreo, T. & Mori, N. (2021) Critical evaluation of biodegradation studies on synthetic plastics through a systematic literature review. *Science of The Total Environment* 752: 141959. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141959>
- McCormick, A.R., Hoellein, T.J., London, M.G., Hittie, J., Scott, J.W. & Kelly, J.J. (2016) Microplastic in surface waters of urban rivers: concentration, sources, and associated bacterial assemblages. *Ecosphere* 7: e01556. <https://doi.org/10.1002/ecs2.1556>
- McGregor, S. & Strydom, N.A. (2020) Feeding ecology and microplastic ingestion in *Chelon richardsonii* (Mugilidae) associated with surf diatom *Anaulus australis* accumulations in a warm temperate South African surf zone. *Marine Pollution Bulletin* 158: 111430. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111430>
- Meijer, L.J.J., van Emmerik, T., van der Ent, R., Schmidt, C. & Lebreton, L. (2021) More than 1000 rivers account for 80% of global riverine plastic emissions into the ocean. *Science Advances* 7: eaaz5803. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz5803>
- Menéndez-Pedriz, A. & Jaumot, J. (2020) Interaction of Environmental Pollutants with Microplastics: A Critical Review of Sorption Factors, Bioaccumulation and Ecotoxicological Effects. *Toxics* 8: 40. <https://doi.org/10.3390/toxics8020040>
- Metcalf, R., Oliver, D.M., Moresco, V. & Quilliam, R.S. (2022) Quantifying the importance of plastic pollution for the dissemination of human pathogens: The challenges of choosing an appropriate “control” material. *Science of The Total Environment* 810: 152292. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152292>
- Meyer-Cifuentes, I.E., Werner, J., Jehmlich, N., Will, S.E., Neumann-Schaal, M. & Öztürk, B. (2020) Synergistic biodegradation of aromatic-aliphatic copolyester plastic by a marine microbial consortium. *Nature Communications* 11: 5790. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19583-2>
- Mghili, B., De-la-Torre, G.E. & Aksissou, M. (2023) Assessing the potential for the introduction and spread of alien species with marine litter. *Marine Pollution Bulletin* 191: 114913. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114913>
- Miao, L., Li, W., Adyel, T.M., Yao, Y., Deng, Y., Wu, J., Zhou, Y., Yu, Y. & Hou, J. (2023) Spatio-temporal succession of microbial communities in plastisphere and their potentials for plastic degradation in freshwater ecosystems. *Water Research* 229: 119406. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.119406>
- Miao, L., Wang, C., Adyel, T.M., Zhao, J., Yan, N., Wu, J. & Hou, J. (2021a) Periphytic Biofilm Formation on Natural and Artificial Substrates: Comparison of Microbial Compositions, Interactions, and Functions. *Frontiers in Microbiology* 12: 684903. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.684903>

- Miao, L., Wang, C., Adyel, T.M., Zhao, J., Yan, N., Wu, J. & Hou, J. (2021b) Periphytic Biofilm Formation on Natural and Artificial Substrates: Comparison of Microbial Compositions, Interactions, and Functions. *Frontiers in Microbiology* 12.
- Miao, L., Wang, P., Hou, J., Yao, Y., Liu, Z., Liu, S. & Li, T. (2019) Distinct community structure and microbial functions of biofilms colonizing microplastics. *Science of The Total Environment* 650: 2395–2402. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.378>
- Michotey, V., Blanfuné, A., Chevalier, C., Garel, M., Diaz, F., Berline, L., Le Grand, L., Armougom, F., Guasco, S., Ruitton, S., Changeux, T., Belloni, B., Blanchot, J., Ménard, F. & Thibaut, T. (2020) In situ observations and modelling revealed environmental factors favouring occurrence of *Vibrio* in microbiome of the pelagic *Sargassum* responsible for strandings. *Science of The Total Environment* 748: 141216. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141216>
- Mincer, T., Zettler, E. & Amaral-Zettler, L. (2016) Biofilms on Plastic Debris and Their Influence on Marine Nutrient Cycling, Productivity, and Hazardous Chemical Mobility. *Handbook of Environmental Chemistry*.
- Mincer, T.J., Bos, R.P., Zettler, E.R., Zhao, S., Asbun, A.A., Orsi, W.D., Guzzetta, V.S. & Amaral-Zettler, L.A. (2023) Sargasso Sea *Vibrio* bacteria: Underexplored potential pathogens in a perturbed habitat. *Water Research* 242: 120033. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.120033>
- Mincer, T.J., Zettler, E.R. & Amaral-Zettler, L.A. (2019) Biofilms on Plastic Debris and Their Influence on Marine Nutrient Cycling, Productivity, and Hazardous Chemical Mobility. In: H. Takada & H. K. Karapanagioti (eds.) *Hazardous Chemicals Associated with Plastics in the Marine Environment*. The Handbook of Environmental Chemistry. Springer International Publishing, Cham, pp. 221–233.
- Mohamed Nor, N.H., Kooi, M., Diepens, N.J. & Koelmans, A.A. (2021) Lifetime Accumulation of Microplastic in Children and Adults. *Environmental Science & Technology* 55: 5084–5096. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c07384>
- Moog, D., Schmitt, J., Senger, J., Zarzycki, J., Rexer, K.-H., Linne, U., Erb, T. & Maier, U.G. (2019) Using a marine microalga as a chassis for polyethylene terephthalate (PET) degradation. *Microbial Cell Factories* 18: 171. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1220-z>
- Moon, Y., Shim, W.J., Han, G.M., Jeong, J., Cho, Y., Kim, I.-H., Kim, M.-S., Lee, H.-R. & Hong, S.H. (2022) What type of plastic do sea turtles in Korean waters mainly ingest? Quantity, shape, color, size, polymer composition, and original usage. *Environmental Pollution* 298: 118849. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.118849>
- Moore, C.J., Moore, S.L., Leecaster, M.K. & Weisberg, S.B. (2001) A Comparison of Plastic and Plankton in the North Pacific Central Gyre. *Marine Pollution Bulletin* 42: 1297–1300. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(01\)00114-X](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00114-X)
- Moore, C.J., Moore, S.L., Weisberg, S.B., Lattin, G.L. & Zellers, A.F. (2002) A comparison of neustonic plastic and zooplankton abundance in southern California's coastal waters. *Marine Pollution Bulletin* 44: 1035–1038. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00150-9](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00150-9)
- Morales-Caselles, C., Viejo, J., Martí, E., González-Fernández, D., Pragnell-Raasch, H., González-Gordillo, J.I., Montero, E., Arroyo, G.M., Hanke, G., Salvo, V.S., Basurko, O.C., Mallos, N., Lebreton, L., Echevarría, F., van Emmerik, T., Duarte, C.M., Gálvez, J.A., van Sebille, E., Galgani, F., García, C.M., Ross, P.S., Bartual, A., Ioakeimidis, C., Markalain, G., Isobe, A. & Cózar, A. (2021) An inshore–offshore sorting system revealed from global classification of ocean litter. *Nature Sustainability* 4: 484–493. <https://doi.org/10.1038/s41893-021-00720-8>
- Morgana, S., Ghigliotti, L., Estévez-Calvar, N., Stifanese, R., Wieckzorek, A., Doyle, T., Christiansen, J.S., Faimali, M. & Garaventa, F. (2018) Microplastics in the Arctic: A case study with sub-surface water and fish samples off Northeast Greenland. *Environmental Pollution* 242: 1078–1086. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.08.001>

- Morya, R., Kumar, M. & Thakur, I.S. (2018) Utilization of glycerol by *Bacillus* sp. ISTVK1 for production and characterization of Polyhydroxyvalerate. *Bioresource Technology Reports* 2: 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2018.03.002>
- Moshood, T.D., Nawanir, G., Mahmud, F., Mohamad, F., Ahmad, M.H. & AbdulGhani, A. (2022) Sustainability of biodegradable plastics: New problem or solution to solve the global plastic pollution? *Current Research in Green and Sustainable Chemistry* 5: 100273. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2022.100273>
- Muhonja, C.N., Makonde, H., Magoma, G. & Imbuga, M. (2018) Biodegradability of polyethylene by bacteria and fungi from Dandora dumpsite Nairobi-Kenya. P. K. Arora (ed.). *PLOS ONE* 13: e0198446. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198446>
- Mulochau, T., Lelabousse, C. & Séré, M. (2020) Estimations of densities of marine litter on the fringing reefs of Mayotte (France – South Western Indian Ocean) - impacts on coral communities. *Marine Pollution Bulletin* 160: 111643. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111643>

## N

- Nanthini devi, K., Raju, P., Santhanam, P. & Perumal, P. (2022) Impacts of microplastics on marine organisms: Present perspectives and the way forward. *The Egyptian Journal of Aquatic Research* 48: 205–209. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2022.03.001>
- Narancic, T., Verstichel, S., Reddy Chaganti, S., Morales-Gamez, L., Kenny, S.T., De Wilde, B., Babu Padamati, R. & O'Connor, K.E. (2018) Biodegradable Plastic Blends Create New Possibilities for End-of-Life Management of Plastics but They Are Not a Panacea for Plastic Pollution. *Environmental Science & Technology* 52: 10441–10452. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02963>
- Narayanan, M. (2023) Origination, fate, accumulation, and impact, of microplastics in a marine ecosystem and bio/technological approach for remediation: A review. *Process Safety and Environmental Protection* 177: 472–485. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2023.07.013>
- Nelms, S., Clark, B., Duncan, E., Germanov, E., Godley, B.J., Parton, K., Pham, C.K. & Rodríguez, Y. (2023) Plastic Pollution and Marine Megafauna: Recent Advances and Future Directions | Plastic Pollution in the Global Ocean. Available from: [https://www.worldscientific.com/doi/epdf/10.1142/9789811259111\\_0005](https://www.worldscientific.com/doi/epdf/10.1142/9789811259111_0005) (October 31, 2023)
- Nelms, S.E., Duncan, E.M., Broderick, A.C., Galloway, T.S., Godfrey, M.H., Hamann, M., Lindeque, P.K. & Godley, B.J. (2016) Plastic and marine turtles: a review and call for research. *ICES Journal of Marine Science* 73: 165–181. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsv165>
- Nelms, S.E., Galloway, T.S., Godley, B.J., Jarvis, D.S. & Lindeque, P.K. (2018) Investigating microplastic trophic transfer in marine top predators. *Environmental Pollution* 238: 999–1007. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.016>
- Net, S., Sempéré, R., Delmont, A., Paluselli, A. & Ouddane, B. (2015) Occurrence, Fate, Behavior and Ecotoxicological State of Phthalates in Different Environmental Matrices. *Environmental Science & Technology* 49: 4019–4035. <https://doi.org/10.1021/es505233b>
- Ningthoujam, R., Satiraphan, M., Sompongchaiyakul, P., Bureekul, S., Luadnakrob, P. & Pinyakong, O. (2023) Bacterial community shifts in a di-(2-ethylhexyl) phthalate-degrading enriched consortium and the isolation and characterization of degraders predicted through network analyses. *Chemosphere* 310: 136730. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136730>

## O

- Obbard, R.W., Sadri, S., Wong, Y.Q., Khitun, A.A., Baker, I. & Thompson, R.C. (2014) Global warming releases microplastic legacy frozen in Arctic Sea ice. *Earth's Future* 2: 315–320. <https://doi.org/10.1002/2014EF000240>
- Oberbeckmann, S., Kreikemeyer, B. & Labrenz, M. (2018) Environmental Factors Support the Formation of Specific Bacterial Assemblages on Microplastics. *Frontiers in Microbiology* 8.
- Oberbeckmann, S. & Labrenz, M. (2020) Marine Microbial Assemblages on Microplastics: Diversity, Adaptation, and Role in Degradation. *Annual Review of Marine Science* 12: 209–232. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010419-010633>
- Oberbeckmann, S., Loeder, M.G.J., Gerds, G. & Osborn, A.M. (2014) Spatial and seasonal variation in diversity and structure of microbial biofilms on marine plastics in Northern European waters. *FEMS Microbiology Ecology* 90: 478–492. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12409>
- Oberbeckmann, S., Osborn, A.M. & Duhaime, M.B. (2016) Microbes on a Bottle: Substrate, Season and Geography Influence Community Composition of Microbes Colonizing Marine Plastic Debris. D. A. Carter (ed.). *PLOS ONE* 11: e0159289. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159289>
- O'Brien, S., Rauert, C., Ribeiro, F., Okoffo, E.D., Burrows, S.D., O'Brien, J.W., Wang, X., Wright, S.L. & Thomas, K.V. (2023) There's something in the air: A review of sources, prevalence and behaviour of microplastics in the atmosphere. *Science of The Total Environment* 874: 162193. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162193>
- O'Brine, T. & Thompson, R.C. (2010) Degradation of plastic carrier bags in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin* 60: 2279–2283. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.08.005>
- Odobel, C., Dussud, C., Philip, L., Derippe, G., Lauters, M., Eyheraguibel, B., Burgaud, G., Ter Halle, A., Meistertzheim, A.-L., Bruzard, S., Barbe, V. & Ghiglione, J.-F. (2021) Bacterial Abundance, Diversity and Activity During Long-Term Colonization of Non-biodegradable and Biodegradable Plastics in Seawater. *Frontiers in Microbiology* 12: 734782. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.734782>
- Ogonowski, M., Motiei, A., Ininbergs, K., Hell, E., Gerdes, Z., Udekwu, K.I., Bacsik, Z. & Gorokhova, E. (2018) Evidence for selective bacterial community structuring on microplastics. *Environmental Microbiology* 20: 2796–2808. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14120>
- Ojha, N., Pradhan, N., Singh, S., Barla, A., Shrivastava, A., Khatua, P., Rai, V. & Bose, S. (2017) Evaluation of HDPE and LDPE degradation by fungus, implemented by statistical optimization. *Scientific Reports* 7: 39515. <https://doi.org/10.1038/srep39515>
- Okal, E.J., Heng, G., Magige, E.A., Khan, S., Wu, S., Ge, Z., Zhang, T., Mortimer, P.E. & Xu, J. (2023) Insights into the mechanisms involved in the fungal degradation of plastics. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 262: 115202. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115202>
- Oluwoye, I., Machuca, L.L., Higgins, S., Suh, S., Galloway, T.S., Halley, P., Tanaka, S. & Iannuzzi, M. (2023) Degradation and lifetime prediction of plastics in subsea and offshore infrastructures. *Science of The Total Environment* 904: 166719. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166719>
- Ozdilek, H.G., Yalcin Ozdilek, S., Ozaner, F. & Sönmez, B. (2006) Impact of accumulated beach litter on *Chelonia mydas* L. 1758(Green turtle) Hatchlings of the Samandag Coast, Hatay, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin* 15: 95–103.

## P

- Paço, A., Duarte, K., da Costa, J.P., Santos, P.S.M., Pereira, R., Pereira, M.E., Freitas, A.C., Duarte, A.C. & Rocha-Santos, T.A.P. (2017) Biodegradation of polyethylene microplastics by the marine fungus *Zalerion maritimum*. *Science of The Total Environment* 586: 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.017>
- Pacoureau, N., Rigby, C.L., Kyne, P.M., Sherley, R.B., Winker, H., Carlson, J.K., Fordham, S.V., Barreto, R., Fernando, D., Francis, M.P., Jabado, R.W., Herman, K.B., Liu, K.-M., Marshall, A.D., Pollom, R.A., Romanov, E.V., Simpfendorfer, C.A., Yin, J.S., Kindsvater, H.K. & Dulvy, N.K. (2021) Half a century of global decline in oceanic sharks and rays. *Nature* 589: 567–571. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-03173-9>
- Parton, K.J., Galloway, T.S. & Godley, B.J. (2019) Global review of shark and ray entanglement in anthropogenic marine debris. *Endangered Species Research* 39: 173–190. <https://doi.org/10.3354/esr00964>
- Pascoe Ortiz, S. (2023) Are bioplastics the solution to the plastic pollution problem? *PLOS Biology* 21: e3002045. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002045>
- Patrício Silva, A.L., Prata, J.C., Walker, T.R., Duarte, A.C., Ouyang, W., Barcelò, D. & Rocha-Santos, T. (2021) Increased plastic pollution due to COVID-19 pandemic: Challenges and recommendations. *Chemical Engineering Journal* 405: 126683. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.126683>
- Patterson Edward, J.K., Mathews, G., Raj, K.D., Laju, R.L., Bharath, M.S., Kumar, P.D., Arasamuthu, A. & Grimsditch, G. (2020) Marine debris — An emerging threat to the reef areas of Gulf of Mannar, India. *Marine Pollution Bulletin* 151: 110793. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110793>
- Pawar, P., Shrivastav, A. & Upadhye, V.J. (2023) Microbial Production of Polyhydroxyalkanoate (PHA). In: A. Sarkar & I. A. Ahmed (eds.) *Microbial products for future industrialization*. Interdisciplinary Biotechnological Advances. Springer Nature, Singapore, pp. 253–265.
- de Paz, G.Á., Saucedo, U.C., Morcillo, R.L. & Aranda, E. (2023) 1 - World of fungi and fungal ecosystems. In: M. J. Taherzadeh, J. A. Ferreira, & A. Pandey (eds.) *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, pp. 1–29.
- Peng, C., Wang, J., Liu, X. & Wang, L. (2022a) Differences in the Plastispheres of Biodegradable and Non-biodegradable Plastics: A Mini Review. *Frontiers in Microbiology* 13: 849147. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.849147>
- Peng, C., Zhang, X., Zhang, X., Liu, C., Chen, Z., Sun, H. & Wang, L. (2022b) Bacterial Community under the Influence of Microplastics in Indoor Environment and the Health Hazards Associated with Antibiotic Resistance Genes. *Environmental Science & Technology* 56: 422–432. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c04520>
- Peng, G., Bellerby, R., Zhang, F., Sun, X. & Li, D. (2020) The ocean's ultimate trashcan: Hadal trenches as major depositories for plastic pollution. *Water Research* 168: 115121. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115121>
- Peng, X. (Nick), Amend, A., Baltar, F., Blanco-Bercial, L., Breyer, E., Burgaud, G., Cunliffe, M., Edgcomb, V., Grossart, H.-P., Mara, P., Masigol, H., Pang, K.-L., Retter, A., Roberts, C., Bleijswijk, J., Walker, A. & Whitner, S. (2024) *Planktonic marine fungi: A review*.
- Peng, Y., Wu, P., Schartup, A.T. & Zhang, Y. (2021) Plastic waste release caused by COVID-19 and its fate in the global ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118: e2111530118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2111530118>
- Philippe, A., Noël, C., Eyheraguibel, B., Briand, J.-F., Paul-Pont, I., Ghiglione, J.-F., Coton, E. & Burgaud, G. (2023) Fungal Diversity and Dynamics during Long-Term Immersion of Conventional and Biodegradable Plastics in the Marine Environment. *Diversity* 15: 579. <https://doi.org/10.3390/d15040579>



- Pinnell, L.J. & Turner, J.W. (2020) Temporal changes in water temperature and salinity drive the formation of a reversible plastic-specific microbial community. *FEMS Microbiology Ecology* 96. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa230>
- Pinto, M., Langer, T.M., Hüffer, T., Hofmann, T. & Herndl, G.J. (2019) The composition of bacterial communities associated with plastic biofilms differs between different polymers and stages of biofilm succession. J. J. Kelly (ed.). *PLOS ONE* 14: e0217165. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217165>
- Pischedda, A., Tosin, M. & Degli-Innocenti, F. (2019) Biodegradation of plastics in soil: The effect of temperature. *Polymer Degradation and Stability* 170: 109017. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2019.109017>
- Plastics Europe (2022) Plastics - the facts 2022. *Plastics Europe FR*. Available from: <https://plasticseurope.org/fr/knowledge-hub/plastics-the-facts-2022/> (July 20, 2023)
- Pollet, T., Berdjeb, L., Garnier, C., Durrieu, G., Le Poupon, C., Misson, B. & Briand, J.-F. (2018) Prokaryotic community successions and interactions in marine biofilms: the key role of Flavobacteria. *FEMS Microbiology Ecology* 94: fiy083. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy083>
- Posen, I.D., Jaramillo, P. & Griffin, W.M. (2016) Uncertainty in the Life Cycle Greenhouse Gas Emissions from U.S. Production of Three Biobased Polymer Families. *Environmental Science & Technology* 50: 2846–2858. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05589>
- Prata, J.C. (2018) Airborne microplastics: Consequences to human health? *Environmental Pollution* 234: 115–126. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.043>
- Prenafeta-Boldú, F.X., de Hoog, G.S. & Summerbell, R.C. (2019) Fungal Communities in Hydrocarbon Degradation. In: T. J. McGenity (ed.) *Microbial Communities Utilizing Hydrocarbons and Lipids: Members, Metagenomics and Ecophysiology*. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. Springer International Publishing, Cham, pp. 307–342.
- Puliga, F., Zuffi, V., Baldo, D., Cavatorta, D., Zambonelli, A., Francioso, O. & Sanchez-Cortes, S. (2023) *Cladosporium cladosporioides* (strain Clc/1): a candidate for low-density polyethylene degradation. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 10: 50. <https://doi.org/10.1186/s40538-023-00419-2>

## Q

- Qin, Q., Yang, Y., Yang, C., Zhang, L., Yin, H., Yu, F. & Ma, J. (2022) Degradation and adsorption behavior of biodegradable plastic PLA under conventional weathering conditions. *Science of The Total Environment* 842: 156775. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156775>
- Quemener, M., Mara, P., Schubotz, F., Beaudoin, D., Li, W., Pachiadaki, M., Sehein, T.R., Sylvan, J.B., Li, J., Barbier, G., Edgcomb, V. & Burgaud, G. (2020) Meta-omics highlights the diversity, activity and adaptations of fungi in deep oceanic crust. *Environmental Microbiology* 22: 3950–3967. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15181>

## R

- Rajeev, M., Sushmitha, T.J., Toleti, S.R. & Pandian, S.K. (2019) Culture dependent and independent analysis and appraisal of early stage biofilm-forming bacterial community composition in the Southern coastal seawater of India. *Science of The Total Environment* 666: 308–320. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.171>
- Rajvanshi, J., Sogani, M., Kumar, A., Arora, S., Syed, Z., Sonu, K., Gupta, N.S. & Kalra, A. (2023) Perceiving biobased plastics as an alternative and innovative solution to combat plastic pollution for a circular economy. *Science of The Total Environment* 874: 162441. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162441>

- Rasool, F.N., Saavedra, M.A., Pamba, S., Perold, V., Mmochi, A.J., Maalim, M., Simonsen, L., Buur, L., Pedersen, R.H., Syberg, K. & Jelsbak, L. (2021) Isolation and characterization of human pathogenic multidrug resistant bacteria associated with plastic litter collected in Zanzibar. *Journal of Hazardous Materials* 405: 124591. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124591>
- Ray, S. & Kalia, V.C. (2017) Polyhydroxyalkanoate Production and Degradation Patterns in Bacillus Species. *Indian Journal of Microbiology* 57: 387–392. <https://doi.org/10.1007/s12088-017-0676-y>
- Rédou, V., Navarri, M., Meslet-Cladière, L., Barbier, G. & Burgaud, G. (2015) Species Richness and Adaptation of Marine Fungi from Deep-Subseafloor Sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 81: 3571–3583. <https://doi.org/10.1128/AEM.04064-14>
- Reed, S., Clark, M., Thompson, R. & Hughes, K.A. (2018) Microplastics in marine sediments near Rothera Research Station, Antarctica. *Marine Pollution Bulletin* 133: 460–463. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.068>
- Revel, M., Châtel, A. & Mouneyrac, C. (2018) Micro(nano)plastics: A threat to human health? *Current Opinion in Environmental Science & Health* 1: 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2017.10.003>
- Richardson, K., Hardesty, B.D., Vince, J. & Wilcox, C. (2022) Global estimates of fishing gear lost to the ocean each year. *Science Advances* 8: eabq0135. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abq0135>
- Richardson, K., Wilcox, C., Vince, J. & Hardesty, B.D. (2021) Challenges and misperceptions around global fishing gear loss estimates. *Marine Policy* 129: 104522. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2021.104522>
- Rochman, C.M., Lewison, R.L., Eriksen, M., Allen, H., Cook, A.-M. & Teh, S.J. (2014) Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fish tissue may be an indicator of plastic contamination in marine habitats. *Science of The Total Environment* 476–477: 622–633. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.01.058>
- Roebroek, C.T.J., Harrigan, S., Emmerik, T.H.M. van, Baugh, C., Eilander, D., Prudhomme, C. & Pappenberger, F. (2021) Plastic in global rivers: are floods making it worse? *Environmental Research Letters* 16: 025003. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/abd5df>
- Rogers, K.L., Carreres-Calabuig, J.A., Gorokhova, E. & Posth, N.R. (2020) Micro-by-micro interactions: How microorganisms influence the fate of marine microplastics. *Limnology and Oceanography Letters* 5: 18–36. <https://doi.org/10.1002/lol2.10136>
- Roik, A., Reverter, M. & Pogoreutz, C. (2022) A roadmap to understanding diversity and function of coral reef-associated fungi. *FEMS Microbiology Reviews* 46: fuac028. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuac028>
- Rosenboom, J.-G., Langer, R. & Traverso, G. (2022) Bioplastics for a circular economy. *Nature Reviews Materials* 7: 117–137. <https://doi.org/10.1038/s41578-021-00407-8>
- Rosenholm, A. & Aspeborg, H. (2016) Enrichment of lignocellulose degrading microorganisms by iterative culturing.
- Royer, S.-J., Greco, F., Kogler, M. & Deheyn, D.D. (2023) Not so biodegradable: Polylactic acid and cellulose/plastic blend textiles lack fast biodegradation in marine waters. *PLOS ONE* 18: e0284681. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0284681>
- Ryan, P.G. (2019) Ingestion of Plastics by Marine Organisms. In: H. Takada & H. K. Karapanagioti (eds.) *Hazardous Chemicals Associated with Plastics in the Marine Environment*. The Handbook of Environmental Chemistry. Springer International Publishing, Cham, pp. 235–266.

## S

- Sahu, S., Kaur, A., Khatri, M., Singh, G. & Arya, S.K. (2023) A review on cutinases enzyme in degradation of microplastics. *Journal of Environmental Management* 347: 119193. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119193>
- Saleem, J., Tahir, F., Baig, M.Z.K., Al-Ansari, T. & McKay, G. (2023) Assessing the environmental footprint of recycled plastic pellets: A life-cycle assessment perspective. *Environmental Technology & Innovation*: 103289. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103289>
- Sánchez, C. (2020) Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: An overview of macro- and microplastics biodegradation. *Biotechnology Advances* 40: 107501. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107501>
- de los Santos, C.B., Krång, A.-S. & Infantes, E. (2021) Microplastic retention by marine vegetated canopies: Simulations with seagrass meadows in a hydraulic flume. *Environmental Pollution* 269: 116050. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116050>
- Satti, S. m. & Shah, A. a. (2020) Polyester-based biodegradable plastics: an approach towards sustainable development. *Letters in Applied Microbiology* 70: 413–430. <https://doi.org/10.1111/lam.13287>
- Savoca, M.S., McInturf, A.G. & Hazen, E.L. (2021) Plastic ingestion by marine fish is widespread and increasing. *Global Change Biology* 27: 2188–2199. <https://doi.org/10.1111/gcb.15533>
- Schmidt, P.-A., Bálint, M., Greshake, B., Bandow, C., Römbke, J. & Schmitt, I. (2013) Illumina metabarcoding of a soil fungal community. *Soil Biology and Biochemistry* 65: 128–132. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.05.014>
- Schwabl, P., Köppel, S., Königshofer, P., Bucsics, T., Trauner, M., Reiberger, T. & Liebmann, B. (2019) Detection of Various Microplastics in Human Stool. *Annals of Internal Medicine* 171: 453–457. <https://doi.org/10.7326/M19-0618>
- Sebastian, A., Paul, A.M., Dominic, D., Shaji, M., Jose, P., Sasi, S. & Prasad, M.N.V. (2023) Microbial Degradation of Plastics. *Microplastics in the Ecosphere*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 305–320.
- Sen, K., Sen, B. & Wang, G. (2022) Diversity, Abundance, and Ecological Roles of Planktonic Fungi in Marine Environments. *Journal of Fungi* 8: 491. <https://doi.org/10.3390/jof8050491>
- Senko, J., Nelms, S., Reavis, J., Witherington, B., Godley, B. & Wallace, B. (2020) Understanding individual and population-level effects of plastic pollution on marine megafauna. *Endangered Species Research* 43: 234–252. <https://doi.org/10.3354/esr01064>
- Sérvulo, T., Taylor, J.D., Proietti, M.C., Rodrigues, L. d. S., Puertas, I.P., Barutot, R.A. & Lacerda, A.L. d. F. (2023) Plastisphere composition in a subtropical estuary: Influence of season, incubation time and polymer type on plastic biofouling. *Environmental Pollution* 332: 121873. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121873>
- Seyoum, A. & Pradhan, A. (2019) Effect of phthalates on development, reproduction, fat metabolism and lifespan in *Daphnia magna*. *Science of The Total Environment* 654: 969–977. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.158>
- Shams, M., Alam, I. & Mahbub, M.S. (2021) Plastic pollution during COVID-19: Plastic waste directives and its long-term impact on the environment. *Environmental Advances* 5: 100119. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2021.100119>
- Shamskhany, A., Li, Z., Patel, P. & Karimpour, S. (2021) Evidence of Microplastic Size Impact on Mobility and Transport in the Marine Environment: A Review and Synthesis of Recent Research. *Frontiers in Marine Science* 8.

- Shaw, D. & Sahni, P. (2014) Plastic to oil. 46.
- Shay, R., Wiegand, A.A. & Trail, F. (2022) Biofilm Formation and Structure in the Filamentous Fungus *Fusarium graminearum*, a Plant Pathogen. *Microbiology Spectrum* 10: e0017122. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00171-22>
- Silva, M.M., Maldonado, G.C., Castro, R.O., de Sá Felizardo, J., Cardoso, R.P., Anjos, R.M. dos & Araújo, F.V. de (2019) Dispersal of potentially pathogenic bacteria by plastic debris in Guanabara Bay, RJ, Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 141: 561–568. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.02.064>
- Silva, V., Pérez, V. & Gillanders, B.M. (2023) Short-term plastisphere colonization dynamics across six plastic types. *Environmental Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.16445>
- Siracusa, V. & Blanco, I. (2020) Bio-Polyethylene (Bio-PE), Bio-Polypropylene (Bio-PP) and Bio-Poly(ethylene terephthalate) (Bio-PET): Recent Developments in Bio-Based Polymers Analogous to Petroleum-Derived Ones for Packaging and Engineering Applications. *Polymers* 12: 1641. <https://doi.org/10.3390/polym12081641>
- Sjollema, S.B., Redondo-Hasselerharm, P., Leslie, H.A., Kraak, M.H.S. & Vethaak, A.D. (2016) Do plastic particles affect microalgal photosynthesis and growth? *Aquatic Toxicology* 170: 259–261. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.12.002>
- Smith, J. & Vignieri, S. (2021) A devil's bargain. *Science* 373: 34–35. <https://doi.org/10.1126/science.abj9099>
- Son, H.F., Cho, I.J., Joo, S., Seo, H., Sagong, H.-Y., Choi, S.Y., Lee, S.Y. & Kim, K.-J. (2019) Rational Protein Engineering of Thermo-Stable PETase from *Ideonella sakaiensis* for Highly Efficient PET Degradation. *ACS Catalysis* 9: 3519–3526. <https://doi.org/10.1021/acscatal.9b00568>
- de Souza Machado, A.A., Kloas, W., Zarfl, C., Hempel, S. & Rillig, M.C. (2018) Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. *Global Change Biology* 24: 1405–1416. <https://doi.org/10.1111/gcb.14020>
- Srikanth, M., Sandeep, T.S.R.S., Sucharitha, K. & Godi, S. (2022) Biodegradation of plastic polymers by fungi: a brief review. *Bioresources and Bioprocessing* 9: 42. <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00532-4>
- Stelfox, M., Burian, A., Shanker, K., Rees, A.F., Jean, C., Willson, M.S., Manik, N.A. & Sweet, M. (2020) Tracing the origin of olive ridley turtles entangled in ghost nets in the Maldives: A phylogeographic assessment of populations at risk. *Biological Conservation* 245: 108499. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108499>
- Stenger, K.S., Wikmark, O.G., Bezuidenhout, C.C. & Molale-Tom, L.G. (2021) Microplastics pollution in the ocean: Potential carrier of resistant bacteria and resistance genes. *Environmental Pollution* 291: 118130. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118130>
- Su, X., Yang, L., Yang, K., Tang, Y., Wen, T., Wang, Y., Rillig, M.C., Rohe, L., Pan, J., Li, H. & Zhu, Y. (2022) Estuarine plastisphere as an overlooked source of N<sub>2</sub>O production. *Nature Communications* 13: 3884. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31584-x>
- Suhrhoff, T.J. & Scholz-Böttcher, B.M. (2016) Qualitative impact of salinity, UV radiation and turbulence on leaching of organic plastic additives from four common plastics — A lab experiment. *Marine Pollution Bulletin* 102: 84–94. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.11.054>
- Sun, X., Chen, B., Xia, B., Li, Q., Zhu, L., Zhao, X., Gao, Y. & Qu, K. (2020) Impact of mariculture-derived microplastics on bacterial biofilm formation and their potential threat to mariculture: A case in situ study on the Sungo Bay, China. *Environmental Pollution* 262: 114336. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114336>
- Sun, Y., Shi, J., Wang, X., Ding, C. & Wang, J. (2022) Deciphering the Mechanisms Shaping the Plastisphere Microbiota in Soil. *mSystems* 7: e00352-22. <https://doi.org/10.1128/msystems.00352-22>

Susarellu, R., Suquet, M., Thomas, Y., Lambert, C., Fabioux, C., Pernet, M.E.J., Le Goïc, N., Quillien, V., Mingant, C., Epelboin, Y., Corporeau, C., Guyomarch, J., Robbens, J., Paul-Pont, I., Soudant, P. & Huvet, A. (2016) Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene microplastics. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113: 2430–2435. <https://doi.org/10.1073/pnas.1519019113>

Sykes, E.A., Dai, Q., Tsoi, K.M., Hwang, D.M. & Chan, W.C.W. (2014) Nanoparticle exposure in animals can be visualized in the skin and analysed via skin biopsy. *Nature Communications* 5: 3796. <https://doi.org/10.1038/ncomms4796>

Syranidou, E., Karkanorachaki, K., Amorotti, F., Avgeropoulos, A., Kolvenbach, B., Zhou, N.-Y., Fava, F., Corvini, P.F.-X. & Kalogerakis, N. (2019) Biodegradation of mixture of plastic films by tailored marine consortia. *Journal of Hazardous Materials* 375: 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.04.078>

## T

Tanasupawat, S., Takehana, T., Yoshida, S., Hiraga, K. & Oda, K. (2016) *Ideonella sakaiensis* sp. nov., isolated from a microbial consortium that degrades poly(ethylene terephthalate). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66: 2813–2818. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001058>

Taylor, D.L., Walters, W.A., Lennon, N.J., Bochicchio, J., Krohn, A., Caporaso, J.G. & Pennanen, T. (2016a) Accurate Estimation of Fungal Diversity and Abundance through Improved Lineage-Specific Primers Optimized for Illumina Amplicon Sequencing. *Applied and Environmental Microbiology* 82: 7217–7226. <https://doi.org/10.1128/AEM.02576-16>

Taylor, M.L., Gwinnett, C., Robinson, L.F. & Woodall, L.C. (2016b) Plastic microfibre ingestion by deep-sea organisms. *Scientific Reports* 6: 33997. <https://doi.org/10.1038/srep33997>

Tedersoo, L., Anslan, S., Bahram, M., Põlme, S., Riit, T., Liiv, I., Kõljalg, U., Kisand, V., Nilsson, H., Hildebrand, F., Bork, P. & Abarenkov, K. (2015) Shotgun metagenomes and multiple primer pair-barcode combinations of amplicons reveal biases in metabarcoding analyses of fungi. *Mycology* 10: 1–43. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.10.4852>

Tedersoo, L., Bahram, M., Põlme, S., Kõljalg, U., Yorou, N.S., Wijesundera, R., Ruiz, L.V., Vasco-Palacios, A.M., Thu, P.Q., Suija, A., Smith, M.E., Sharp, C., Saluveer, E., Saitta, A., Rosas, M., Riit, T., Ratkowsky, D., Pritsch, K., Põldmaa, K., Piepenbring, M., Phosri, C., Peterson, M., Parts, K., Pärtel, K., Otsing, E., Nouhra, E., Njouonkou, A.L., Nilsson, R.H., Morgado, L.N., Mayor, J., May, T.W., Majuakim, L., Lodge, D.J., Lee, S.S., Larsson, K.-H., Kohout, P., Hosaka, K., Hiiesalu, I., Henkel, T.W., Harend, H., Guo, L., Greslebin, A., Grelet, G., Geml, J., Gates, G., Dunstan, W., Dunk, C., Drenkhan, R., Dearnaley, J., De Kesel, A., Dang, T., Chen, X., Buegger, F., Brearley, F.Q., Bonito, G., Anslan, S., Abell, S. & Abarenkov, K. (2014) Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346: 1256688. <https://doi.org/10.1126/science.1256688>

Temporiti, M.E.E., Nicola, L., Nielsen, E. & Tosi, S. (2022) Fungal Enzymes Involved in Plastics Biodegradation. *Microorganisms* 10: 1180. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061180>

Tetu, S.G., Sarker, I., Schrameyer, V., Pickford, R., Elbourne, L.D.H., Moore, L.R. & Paulsen, I.T. (2019) Plastic leachates impair growth and oxygen production in *Prochlorococcus*, the ocean's most abundant photosynthetic bacteria. *Communications Biology* 2: 1–9. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0410-x>

Theirlynck, T., Mendonça, I.R.W., Engelen, A.H., Bolhuis, H., Collado-Vides, L., van Tussenbroek, B.I., García-Sánchez, M., Zettler, E., Muyzer, G. & Amaral-Zettler, L. (2023) Diversity of the holopelagic *Sargassum* microbiome from the Great Atlantic *Sargassum* Belt to coastal stranding locations. *Harmful Algae* 122: 102369. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2022.102369>

Thibault, M., Hoarau, L., Lebreton, L., Le Corre, M., Barret, M., Cordier, E., Ciccione, S., Royer, S.-J., Ter Halle, A., Ramanampamonjy, A., Jean, C. & Dalleau, M. (2023) Do loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) gut contents reflect the types, colors and sources of plastic pollution in the Southwest Indian Ocean? *Marine Pollution Bulletin* 194: 115343. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115343>

- Thompson, R.C., Olsen, Y., Mitchell, R.P., Davis, A., Rowland, S.J., John, A.W.G., McGonigle, D. & Russell, A.E. (2004) Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science* 304: 838–838. <https://doi.org/10.1126/science.1094559>
- Tournier, V., Duquesne, S., Guillaumot, F., Cramail, H., Taton, D., Marty, A. & André, I. (2023) Enzymes' Power for Plastics Degradation. *Chemical Reviews* 123: 5612–5701. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00644>
- Traboni, C., Sarno, D., Ribera d'Alcalà, M. & Mazzocchi, M.G. (2023) Microplastics in the menu of Mediterranean zooplankton: Insights from the feeding response of the calanoid copepod *Centropages typicus*. *Marine Ecology n/a*: e12760. <https://doi.org/10.1111/maec.12760>
- Tu, C., Chen, T., Zhou, Q., Liu, Y., Wei, J., Waniek, J.J. & Luo, Y. (2020) Biofilm formation and its influences on the properties of microplastics as affected by exposure time and depth in the seawater. *Science of The Total Environment* 734: 139237. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139237>

## U

- Unterfrauner, E., Voigt, C., Schrammel, M. & Menichinelli, M. (2017) The Maker Movement and the Disruption of the Producer-Consumer Relation
- Urbanek, A.K., Strzelecki, M.C. & Mirończuk, A.M. (2021) The potential of cold-adapted microorganisms for biodegradation of bioplastics. *Waste Management* 119: 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.09.031>

## V

- Vaksmas, A., Egger, M., Lüke, C., Martins, P.D., Rosselli, R., Asbun, A.A. & Niemann, H. (2022) Microbial communities on plastic particles in surface waters differ from subsurface waters of the North Pacific Subtropical Gyre. *Marine Pollution Bulletin* 182: 113949. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113949>
- Vaksmas, A., Knittel, K., Abdala, D., Goudriaan, M., Ellrott, A., Witte, H., Vollmer, I., Meirer, F., Lott, C., Weber, M., Engelmann, J. & Niemann, H. (2021) Microbial Communities on Plastic Polymers in the Mediterranean Sea. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.673553>
- Van Franeker, J., Kühn, S., Anker-Nilssen, T., Edwards, E., Gallien, F., Guse, N., Kakkonen, J., Mallory, M., Miles, W., Olsen, K., Pedersen, J., Provencher, J., Roos, M., Stienen, E., Turner, D. & Loon, W.M.G.M. (2021) New tools to evaluate plastic ingestion by northern fulmars applied to North Sea monitoring data 2002–2018. *Marine Pollution Bulletin* 166: 112246. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112246>
- Van Sebille, E., Wilcox, C., Lebreton, L., Maximenko, N., Hardesty, B.D., van Franeker, J.A., Eriksen, M., Siegel, D., Galgani, F. & Law, K.L. (2015) A global inventory of small floating plastic debris. *Environmental Research Letters* 10: 124006. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/10/12/124006>
- Varghese, S., Dhanraj, N.D., Rebello, S., Sindhu, R., Binod, P., Pandey, A., Jisha, M.S. & Awasthi, M.K. (2022) Leads and hurdles to sustainable microbial bioplastic production. *Chemosphere* 305: 135390. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135390>
- Vezzulli, L., Brettar, I., Pezzati, E., Reid, P.C., Colwell, R.R., Höfle, M.G. & Pruzzo, C. (2012) Long-term effects of ocean warming on the prokaryotic community: evidence from the vibrios. *The ISME Journal* 6: 21–30. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.89>
- Viel, T., Manfra, L., Zupo, V., Libralato, G., Cocca, M. & Costantini, M. (2023) Biodegradation of Plastics Induced by Marine Organisms: Future Perspectives for Bioremediation Approaches. *Polymers* 15: 2673. <https://doi.org/10.3390/polym15122673>

## W

- Wallbank, J., Lear, G., Kingsbury, J., Weaver, L., Doake, F., Smith, D., Audrezet, F., Maday, S., Gambarini, V., Donaldson, L., Theobald, B., Barbier, M. & Pantos, O. (2022) Into the Plastisphere, Where Only the Generalists Thrive: Early Insights in Plastisphere Microbial Community Succession. *Frontiers in Marine Science* 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.841142>
- Wang, L., Yang, H., Guo, M., Wang, Z. & Zheng, X. (2023a) Adsorption of antibiotics on different microplastics (MPs): Behavior and mechanism. *Science of The Total Environment* 863: 161022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161022>
- Wang, M., Mara, P., Burgaud, G., Edgcomb, V., Long, X., Yang, H., Cai, L. & Li, W. (2023b) Metatranscriptomics and metabarcoding reveal spatiotemporal shifts in fungal communities and their activities in Chinese coastal waters. *Molecular Ecology* 32: 2750–2765. <https://doi.org/10.1111/mec.16905>
- Wang, Z., An, C., Chen, X., Lee, K., Zhang, B. & Feng, Q. (2021) Disposable masks release microplastics to the aqueous environment with exacerbation by natural weathering. *Journal of Hazardous Materials* 417: 126036. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126036>
- Webb, H.K., Crawford, R.J., Sawabe, T. & Ivanova, E.P. (2009) Poly(ethylene terephthalate) Polymer Surfaces as a Substrate for Bacterial Attachment and Biofilm Formation. *Microbes and Environments* 24: 39–42. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME08538>
- Wen, B., Liu, J.-H., Zhang, Y., Zhang, H.-R., Gao, J.-Z. & Chen, Z.-Z. (2020) Community structure and functional diversity of the plastisphere in aquaculture waters: Does plastic color matter? *Science of The Total Environment* 740: 140082. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140082>
- Wiesinger, H., Wang, Z. & Hellweg, S. (2021) Deep Dive into Plastic Monomers, Additives, and Processing Aids. *Environmental Science & Technology* 55: 9339–9351. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c00976>
- Wilcox, C., Van Sebille, E. & Hardesty, B.D. (2015) Threat of plastic pollution to seabirds is global, pervasive, and increasing. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112: 11899–11904. <https://doi.org/10.1073/pnas.1502108112>
- Williams, A.T. & Rangel-Buitrago, N. (2022) The past, present, and future of plastic pollution. *Marine Pollution Bulletin* 176: 113429. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113429>
- Wojnowska-Baryła, I., Bernat, K. & Zaborowska, M. (2022) Plastic Waste Degradation in Landfill Conditions: The Problem with Microplastics, and Their Direct and Indirect Environmental Effects. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 19: 13223. <https://doi.org/10.3390/ijerph192013223>
- Woodall, L.C., Jungblut, A.D., Hopkins, K., Hall, A., Robinson, L.F., Gwinnett, C. & Paterson, G.L.J. (2018) Deep-sea anthropogenic macrodebris harbours rich and diverse communities of bacteria and archaea. *PLOS ONE* 13: e0206220. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206220>
- Woodall, L.C., Sanchez-Vidal, A., Canals, M., Paterson, G.L.J., Coppock, R., Sleight, V., Calafat, A., Rogers, A.D., Narayanaswamy, B.E. & Thompson, R.C. (2014) The deep sea is a major sink for microplastic debris. *Royal Society Open Science* 1: 140317. <https://doi.org/10.1098/rsos.140317>
- Wright, R.J., Erni-Cassola, G., Zadjelovic, V., Latva, M. & Christie-Oleza, J.A. (2020a) Marine Plastic Debris: A New Surface for Microbial Colonization. *Environmental Science & Technology* 54: 11657–11672. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02305>
- Wright, R.J., Langille, M.G.I. & Walker, T.R. (2021a) Food or just a free ride? A meta-analysis reveals the global diversity of the Plastisphere. *The ISME Journal* 15: 789–806. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00814-9>

Wright, R.J., Langille, M.G.I. & Walker, T.R. (2021b) Food or just a free ride? A meta-analysis reveals the global diversity of the Plastisphere. *The ISME Journal* 15: 789–806. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00814-9>

Wright, S.L., Ulke, J., Font, A., Chan, K.L.A. & Kelly, F.J. (2020b) Atmospheric microplastic deposition in an urban environment and an evaluation of transport. *Environment International* 136: 105411. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105411>

## X

Xie, Y., Li, Y., Feng, Y., Cheng, W. & Wang, Y. (2022) Inhalable microplastics prevails in air: Exploring the size detection limit. *Environment International* 162: 107151. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107151>

Yan, Z., Liu, Y., Zhang, T., Zhang, F., Ren, H. & Zhang, Y. (2022) Analysis of Microplastics in Human Feces Reveals a Correlation between Fecal Microplastics and Inflammatory Bowel Disease Status. *Environmental Science & Technology* 56: 414–421. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c03924>

## Y

Yang, S., Xu, W., Zhang, K., Hu, J., Gao, Y., Cui, G., Grossart, H.-P. & Luo, Z. (2022) Fungal communities differ with microplastic types in deep sea sediment enrichments of the Eastern Pacific. *International Biodeterioration & Biodegradation* 173: 105461. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2022.105461>

Yang, Y., Liu, W., Zhang, Z., Grossart, H.-P. & Gadd, G.M. (2020) Microplastics provide new microbial niches in aquatic environments. *Applied Microbiology and Biotechnology* 104: 6501–6511. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10704-x>

Yang, Y., Suyamud, B., Liang, S., Liang, X., Wan, W. & Zhang, W. (2023a) Distinct spatiotemporal succession of bacterial generalists and specialists in the lacustrine plastisphere. *Environmental Microbiology* n/a. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.16400>

Yang, Y., Suyamud, B., Liang, S., Liang, X., Wan, W. & Zhang, W. (2023b) Distinct spatiotemporal succession of bacterial generalists and specialists in the lacustrine plastisphere. *Environmental Microbiology* 25: 2746–2760. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.16400>

Yee, M.S.-L., Hii, L.-W., Looi, C.K., Lim, W.-M., Wong, S.-F., Kok, Y.-Y., Tan, B.-K., Wong, C.-Y. & Leong, C.-O. (2021) Impact of Microplastics and Nanoplastics on Human Health. *Nanomaterials* 11: 496. <https://doi.org/10.3390/nano11020496>

Yu, Y., Miao, L., Adyel, T.M., Waldschläger, K., Wu, J. & Hou, J. (2023) Aquatic plastisphere: Interactions between plastics and biofilms. *Environmental Pollution* 322: 121196. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121196>

Yuan, M.M., Guo, X., Wu, L., Zhang, Y., Xiao, N., Ning, D., Shi, Z., Zhou, X., Wu, L., Yang, Y., Tiedje, J.M. & Zhou, J. (2021) Climate warming enhances microbial network complexity and stability. *Nature Climate Change* 11: 343–348. <https://doi.org/10.1038/s41558-021-00989-9>

## Z

Zaher, S.S. & Ibrahim, S.M. (2023) Challenges and opportunities of bioplastics produced from algae. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries* 27: 365–386. <https://doi.org/10.21608/ejabf.2023.318707>

Zalasiewicz, J., Waters, C.N., Ivar do Sul, J.A., Corcoran, P.L., Barnosky, A.D., Cearreta, A., Edgeworth, M., Gąluszka, A., Jeandel, C., Leinfelder, R., McNeill, J.R., Steffen, W., Summerhayes, C., Wagemann, M., Williams, M., Wolfe, A.P. & Yonah, Y. (2016) The geological cycle of plastics and their use as a stratigraphic indicator of the Anthropocene. *Anthropocene* 13: 4–17. <https://doi.org/10.1016/j.ancene.2016.01.002>



- Zeghal, E., Vaksmaa, A., Vielfaure, H., Boekhout, T. & Niemann, H. (2021) The Potential Role of Marine Fungi in Plastic Degradation – A Review. *Frontiers in Marine Science* 8.
- Zettler, E.R., Mincer, T.J. & Amaral-Zettler, L.A. (2013) Life in the “Plastisphere”: Microbial Communities on Plastic Marine Debris. *Environmental Science & Technology* 47: 7137–7146. <https://doi.org/10.1021/es401288x>
- Zhai, X., Zhang, X.-H. & Yu, M. (2023) Microbial colonization and degradation of marine microplastics in the plastisphere: A review. *Frontiers in Microbiology* 14: 1127308. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1127308>
- Zhang, K., Hamidian, A.H., Tubić, A., Zhang, Y., Fang, J.K.H., Wu, C. & Lam, P.K.S. (2021) Understanding plastic degradation and microplastic formation in the environment: A review. *Environmental Pollution* 274: 116554. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116554>
- Zhang, S.-J., Zeng, Y.-H., Zhu, J.-M., Cai, Z.-H. & Zhou, J. (2022) The structure and assembly mechanisms of plastisphere microbial community in natural marine environment. *Journal of Hazardous Materials* 421: 126780. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126780>
- Zhang, Y., Gao, T., Kang, S. & Sillanpää, M. (2019) Importance of atmospheric transport for microplastics deposited in remote areas. *Environmental Pollution* 254: 112953. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.121>
- Zhao, S., Zettler, E.R., Amaral-Zettler, L.A. & Mincer, T.J. (2021) Microbial carrying capacity and carbon biomass of plastic marine debris. *The ISME Journal* 15: 67–77. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00756-2>
- Zhao, X., Wang, J., Yee Leung, K.M. & Wu, F. (2022) Color: An Important but Overlooked Factor for Plastic Photoaging and Microplastic Formation. *Environmental Science & Technology* 56: 9161–9163. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c02402>
- Zhao, Y., Xiong, X., Wu, C., Xia, Y., Li, J. & Wu, Y. (2018) Influence of light and temperature on the development and denitrification potential of periphytic biofilms. *Science of The Total Environment* 613–614: 1430–1437. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.117>
- Zhou, W., Bergsma, S., Colpa, D.I., Euverink, G.-J.W. & Krooneman, J. (2023) Polyhydroxyalkanoates (PHAs) synthesis and degradation by microbes and applications towards a circular economy. *Journal of Environmental Management* 341: 118033. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118033>
- Zrimec, J., Kokina, M., Jonasson, S., Zorrilla, F. & Zelezniak, A. (2021) Plastic-Degrading Potential across the Global Microbiome Correlates with Recent Pollution Trends. *mBio* 12: 10.1128/mbio.02155-21. <https://doi.org/10.1128/mbio.02155-21>



---

**Titre : Communautés fongiques associées aux déchets plastiques marins et évaluation de leur potentiel en bioremédiation**

**Mots clés :** plastisphère, champignons, diversité, écologie, criblage, biodégradation

**Résumé :** Depuis 1980, plus de 150 millions de tonnes de déchets plastiques auraient été accumulées dans les océans. Ces plastiques représentent un nouvel habitat pour de nombreux micro-organismes, un écosystème connu sous le nom de « plastisphère ». La majorité des études se sont concentrées sur la composante bactérienne de cette plastisphère, avec une exploration limitée des micro-eucaryotes, et en particulier des champignons. Dans ce contexte, ce travail de thèse s'est concentré sur les communautés fongiques associées aux déchets plastiques marins, en termes de potentiel de colonisation et de dégradation. Dans ce cadre, des plastiques immergés en milieu marin ont été collectés et analysés par approches moléculaires et culturelles. Les résultats de *metabarcoding* ont mis en évidence des communautés complexes,

influencées par les conditions environnementales, le temps d'immersion et le type de polymère. L'approche culturale sur milieux supplémentés en polymères a permis d'obtenir 2570 isolats fongiques. Parmi les 300 isolats criblés, six se sont révélés prometteurs dans leur capacité à utiliser des polymères comme source de carbone. Parmi eux, quatre étaient affiliés au genre *Penicillium*, dont un isolat potentiellement original, et un autre connu comme pathogène opportuniste, *Aspergillus fumigatus*. Bien que certains isolats aient montré une cohérence entre leurs capacités de biodégradation et les polymères à partir desquels ils ont été isolés, d'autres ont démontré des schémas contrastés. Les capacités de biodégradation de ces isolats et les mécanismes moléculaires impliqués restent à étudier à l'avenir.

---

**Title :** Fungal communities associated with marine plastic waste and their bioremediation potential

**Keywords :** plastisphere, fungi, ecology, metabarcoding, screening, plastic biodegradation

**Abstract :** Since 1980, more than 150 million tonnes of plastic waste have accumulated in the oceans. This plastic provides a new habitat for many microorganisms, an ecosystem known as the 'plastisphere'. Most studies have focused on the bacterial component of this plastisphere, with limited exploration of micro-eukaryotes, particularly fungi. In this context, this thesis focused on the fungal communities associated with marine plastic waste in terms of their potential for colonisation and degradation. Plastics submerged in the marine environment were collected and analysed using molecular and cultural approaches. The metabarcoding results revealed complex communities influenced by environmental conditions, immersion time and

polymer type. The culture approach on polymer-supplemented media yielded 2,570 fungal isolates. Of the 300 isolates screened, six showed promise in their ability to use polymers as a carbon source. Of these, four were belonged to the *Penicillium* genus, including one potentially original isolate, and another known as an opportunistic pathogen, *Aspergillus fumigatus*. Although some isolates showed consistency between their biodegradation capabilities and the polymers from which they were isolated, others showed contrasting patterns. The biodegradation capacities of these isolates and the molecular mechanisms involved remain to be studied in the future.