

La viriosphère : quelle place dans le fonctionnement et l'évolution des écosystèmes aquatiques (partie 2) ?

Lyria Berdjeb
Stéphan Jacquet

Inra, UMR CARTELE,
Station d'hydrobiologie lacustre,
Équipe BioFEEL,
75, avenue de Corzent,
74203 Thonon-les-Bains Cedex
<berdjeb@thonon.inra.fr>

Résumé. Au-delà de l'effet léthal des virus sur les communautés microbiennes (typiquement les bactéries et le phytoplancton), l'activité virale peut affecter la structure de ces communautés ainsi que le cycle du carbone et des autres nutriments au sein des écosystèmes aquatiques. Par leur activité, les virus assureraient le maintien de la diversité au sein de communautés procaryotes en lysant les groupes les plus compétitifs et en permettant ainsi le développement des groupes minoritaires. Les virus constitueraient aussi le vecteur majeur dans le transfert horizontal des gènes entre espèces ou genres bactériens, et ils pourraient donc être un acteur essentiel remodelant la diversité microbienne à venir. La lyse virale qui induit la transformation de la biomasse en pool de matière organique dissoute stimulerait la respiration microbienne et réduirait le transfert du carbone vers les niveaux trophiques supérieurs ainsi que la sédimentation des particules vers le fond. Les connaissances apportées par l'étude de des virus dans les écosystèmes aquatiques ont enfin suscité un intérêt pour des applications environnementales, tel que le développement de la thérapie phagique dans les systèmes aquacoles. Cependant, un effort de recherche important reste à faire dans la compréhension de l'efficacité réelle de cette thérapie et des possibles phénomènes de résistance sous-jacents qu'elle peut engendrer.

Mots clés : virus, écologie, écosystèmes aquatiques, diversité microbienne, cycle biogéochimique, thérapie phagique

Abstract. Besides the lethal effect of viruses on the microbial community (typically the bacteria and the phytoplankton), the viral activity can affect significantly not only the structure of this community but also the cycling of carbon and other nutrients within aquatic ecosystems. Due to their activities, viruses could maintain the prokaryotic community diversity by lysing the most dominant populations then allowing the development of the minor groups. Also, viruses constitute the major driver of horizontal gene transfer between bacterial species or genus and therefore they could be the principal actor in the diversification of microbial communities. The viral lysis which induces the transformation of the biomass into dissolved organic matter pool could stimulate the microbial respiration and reduce the transfer of carbon to higher trophic levels as well as the sedimentation of organic particles towards the bottom. At last, aquatic viruses may generate an important interest for applied issues, typically the phagotherapy for aquaculture, even if an important effort remains to be done in the comprehension of the real efficiency of this therapy and the possible underlying resistance phenomena.

Key words: virus, ecology, aquatic ecosystems, microbial diversity, biogeochemical cycle, phagotherapy

Introduction

Nous avons montré, au cours de la première partie de cette revue, l'importance qualitative et quantitative des virus (surtout les bactériophages) et leur impact potentiel ou avéré dans le contrôle et le déclin des communautés planctoniques dans les écosystèmes aquatiques. On sait que (i) les virus constituent un compartiment dynamique, avec une abondance située généralement entre 10^6 et 10^8 particules.ml⁻¹, (ii) que la plus grande fraction virale est constituée par les *Caudovirales* qui infectent les communautés procaryotes et sont le principal agent de mortalité bactérienne et à certaines occasions du phytoplancton, (iii) que les phages présentent une très grande diversité (encore largement inexplorée) dans les écosystèmes aquatiques. Au-delà du rôle d'agents de mortalité et de contrôle de la distribution des communautés bactériennes, la question de l'implication réelle des virus dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques demeure. Nous essaierons d'y répondre dans cette deuxième partie, en présentant les travaux et résultats qui ont mis en évidence l'impact des virus sur la diversité procaryote, l'importance via l'infection virale des processus de transfert de gènes sur la diversification microbienne ou encore les conséquences de l'activité virale sur les flux de matière et les cycles biogéochimiques. Nous concluons en évoquant la phagothérapie qui nous semble être particulièrement prometteuse pour contrôler certaines maladies dans les milieux aquatiques.

Rôle des virus dans l'environnement aquatique

Implication dans la structuration des communautés microbiennes

Dès les premiers travaux ayant révélé la forte abondance virale dans les milieux aquatiques, il avait été fait mention de leur rôle potentiel dans l'évolution structurelle des communautés microbiennes [1]. De nombreuses études fondées sur le principe de fractionnement des communautés microbiennes (i.e. leur séparation en fonction de la taille des organismes), et utilisant la dilution ou la concentration des particules virales au sein d'échantillons, ont permis de corroborer ce rôle clé [2, 3]. En effet, au cours de ces différentes études, un changement de structure des procaryotes accompagnants l'évolution de l'infection virale est généralement observé, suggérant un effet direct ou indirect de la lyse virale sur la composition spécifique de ces communautés [2].

L'influence des virus sur la diversité génétique des procaryotes peut se faire par différentes voies [4] (*figure 1*). Ils peuvent affecter la composition de la communauté bactérienne selon le modèle du « phage qui tue le meilleur » (« *killing the winner* ») [5] en contrôlant les effectifs des

groupes les plus abondants, considérés comme les plus compétitifs. Étant donné que la rencontre entre un virus et son hôte est aléatoire, la probabilité de rencontre est donc d'autant plus grande que la population hôte est abondante. La conséquence de ce contrôle de la ou des populations dominantes est un maintien de la diversité spécifique au sein de ces communautés, les groupes minoritaires, les moins compétitifs, pouvant en effet à leur tour profiter des ressources ambiantes pour croître (étant donné la réduction, voire l'élimination de la compétition avec les groupes dominants). Toutefois, même si ce modèle est conforté par quelques études [6, 7], il a aussi été montré que certains groupes bactériens minoritaires pourraient, eux aussi, être soumis à une lyse virale, suggérant ainsi que leur faible abondance puisse être en fait liée à l'action des virus [8].

Les virus peuvent également avoir un impact sur la diversité bactérienne via le transfert de gènes entre organismes [9]. Cet impact peut se faire de manière directe (la transformation) et/ou indirecte (la transduction) (*figure 2*). La transformation consiste en une assimilation et incorporation de l'ADN libre extracellulaire dans le milieu par une cellule procaryote. Ce type de transfert génétique pourrait être stimulé par l'action lytique des virus. Dans les systèmes marins, Jiang et Paul [10] ont estimé qu'entre 17 % et 30 % de l'ADN dissous résulte de la lyse virale, suggérant que l'action lytique virale pouvait être une source importante de cet ADN. Toutefois, même si de nombreuses études ont essayé de quantifier l'ADN libéré au cours de la lyse virale des cellules bactériennes et algales, il n'existe aucune donnée sur la contribution réelle de cet ADN libéré dans le transfert des gènes. Ce qui apparaît comme une certitude, c'est que l'ADN dissous extracellulaire est un réservoir d'information génétique potentiellement important et que l'ADN viral et cellulaire libéré au cours de la lyse virale contribuerait à enrichir significativement ce pool [11]. La transduction peut revêtir deux aspects, l'un dit généralisé et l'autre spécialisé, qui dans les deux cas de figure correspondent à un transfert de gènes d'une « ancienne » à une « nouvelle » cellule hôte. Lors de la transduction généralisée, une partie du matériel génétique de l'hôte peut être empaquetée dans un virus (lytique ou tempéré) et être transféré à un nouvel hôte lors de son infection. Dans le cas de la transduction dite spécialisée, une séquence de l'ADN hôte peut être excisée lorsque le phage tempéré redevient virulent (on parle d'induction) et cette séquence pourra être transférée lors d'une nouvelle infection à un nouvel hôte. Le transfert de gènes via la transduction a été considéré pendant de nombreuses années comme un événement négligeable comparativement à la transformation. Cependant, en découvrant l'importance du cycle lysogénique et en considérant les virus comme un réservoir de gènes protégés par leur capsid contre la dégradation par les nucléases, contrairement à la transformation,

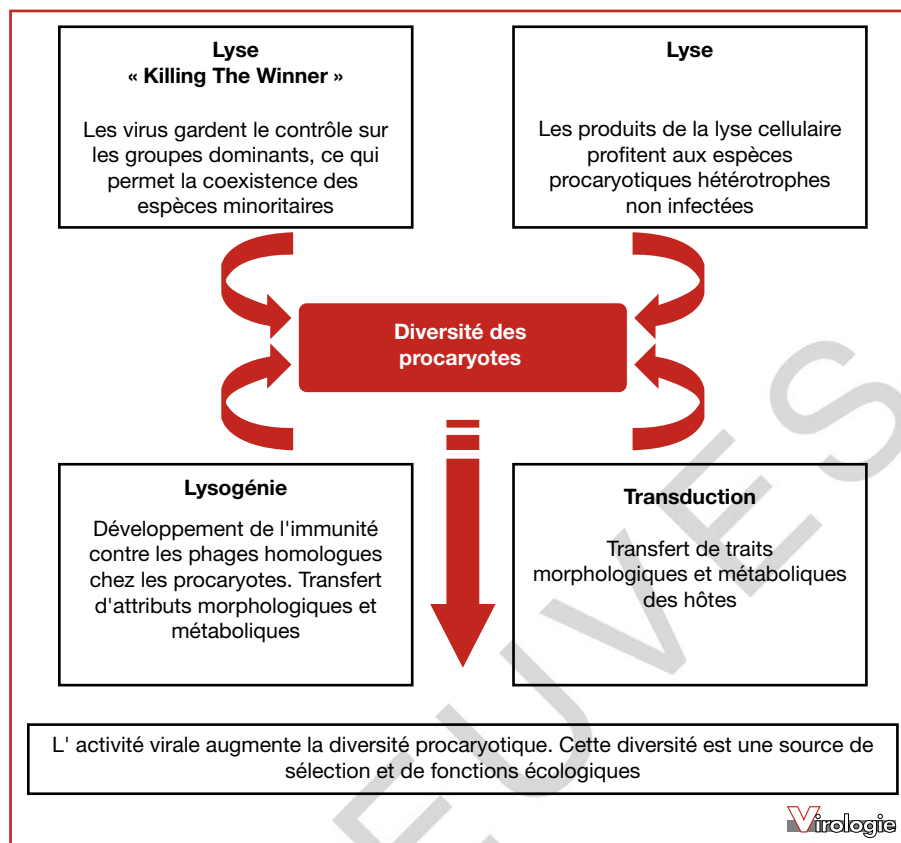


Figure 1. Schéma conceptuel résumant les actions potentielles des virus sur la diversité des procaryotes [4].

on suppose que la transduction constitue en fait un mécanisme de transfert génétique important, si ce n'est le plus important. Les principales études réalisées en milieu aquatique ont eu lieu principalement dans les systèmes lacustres, par Miller et coauteurs [12, 13] en utilisant des microcosmes et l'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* mais l'importance quantitative de tels processus dans la nature reste encore largement méconnue [11]. Des exemples très convaincants concernant le transfert horizontal ont été obtenus grâce aux travaux de Chiura [14] qui avait observé un transfert d'acides aminés prototrophes à des souches *E. coli* auxotrophes au cours de la production virale dans cinq cultures de bactéries marines. Nous pouvons également citer Waldor et Mekalanos [15] qui ont découvert que le choléra était dû à une souche lysogène de *Vibrio cholerae* et que la toxine était codée au niveau du génome du prophage et non au niveau du génome de l'hôte. Un autre exemple est la démonstration de l'existence de gènes photosynthétiques au sein des virus, notamment les composantes clés de la machinerie photosynthétique (protéines D1 et D2) chez les cyanobactéries codées par les gènes d'origine virale *psbA* et *psbD* [16]. Tous ces exemples mettent en évidence une acquisition de caractéristiques particulières des cellules hôtes à partir du

transfert horizontal de gènes via les virus. À ce jour, nous ne connaissons qu'une seule étude ayant estimé la vitesse de transfert de gènes dans les communautés bactériennes marines naturelles [17], et réalisée à partir d'un modèle numérique. Ce dernier a révélé l'importance de ce processus aléatoire dans la régulation de la diversité, la diversification et l'évolution adaptative des communautés microbiennes aquatiques avec plus de $1,3 \cdot 10^{14}$ transductions pouvant avoir lieu par an dans l'estuaire de la baie de Tampa [17].

Au cours d'une étude de quantification des infections lysogéniques et lytiques dans les communautés bactériennes, dans les eaux de surface et de fond, réalisée par Weinbauer *et al.* [18], il a été montré que 35 % de ces bactéries contenaient un génome viral fonctionnel, ce qui correspondrait, en prenant en compte l'abondance procaryote totale, à $4 \cdot 10^{28}$ cellules bactériennes contenant un génome viral fonctionnel dans le monde. Cela reflète clairement l'importance des virus dans le transfert de gènes dans les systèmes aquatiques.

Il est important toutefois de souligner qu'un changement de composition spécifique dans la communauté bactérienne suite à une lyse virale pourrait résulter d'un simple change-

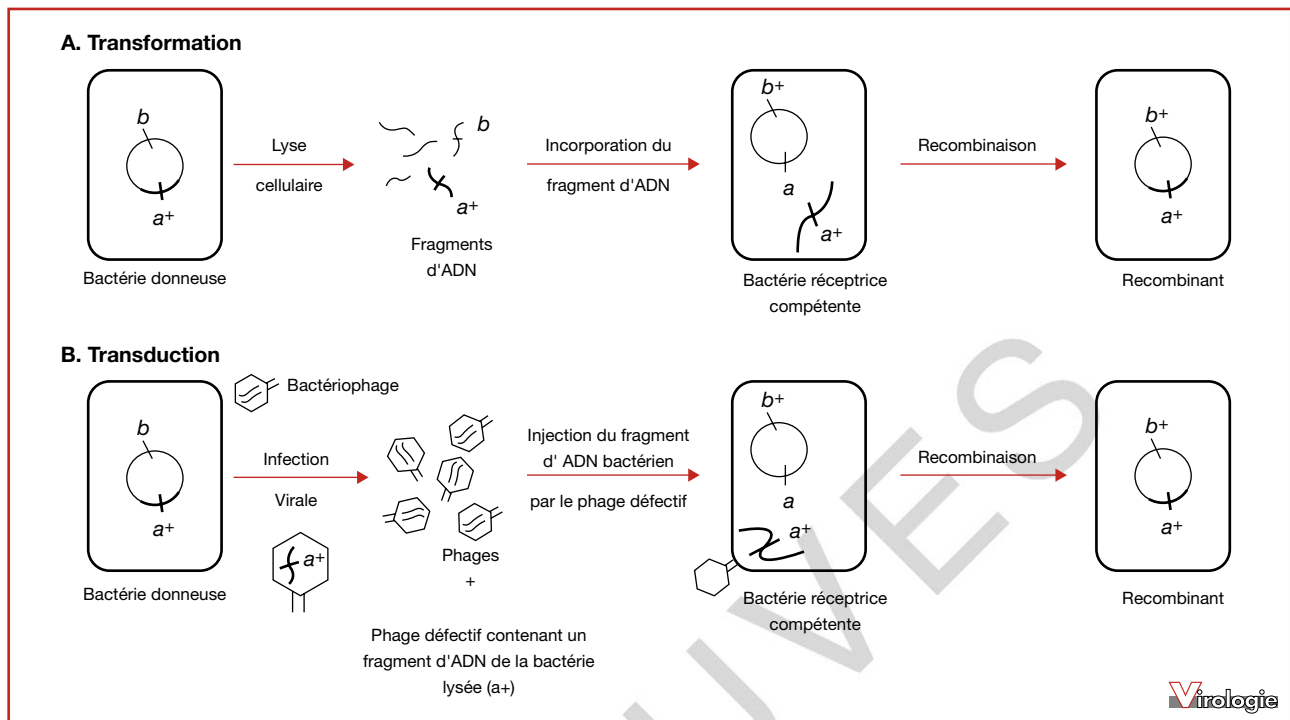


Figure 2. Transfert génétique horizontal (transformation, transduction) chez les bactéries via l'infection et la lyse virale (Port T 2008. www.Bacteriology.suite101.com).

ment de composition et/ou de concentration de la matière organique dissoute. En d'autres termes, la libération de la MO et des nutriments inorganiques au cours de la lyse virale fourniraient une niche spécifique pour la croissance rapide de certaines communautés bactériennes [19].

Au vu de tout cela, il est clair que les virus ne sont pas seulement de simples agents de mortalité ou/et des stimulants de la croissance de populations non infectées, mais également des acteurs très importants dans le maintien de la diversité de la communauté procaryote et de la biodiversité en général [11], un moteur d'évolution génétique des micro-organismes aquatiques et enfin une composante clé dans le devenir de la biosphère.

Implication dans les cycles biogéochimiques et dans le fonctionnement du réseau trophique aquatique

La lyse virale peut affecter significativement le cycle du carbone et de différents éléments nutritifs au sein des écosystèmes aquatiques. En effet, au cours de la lyse virale, la libération de nouveaux virions s'accompagne d'un enrichissement du milieu en matière organique dissoute. Cette matière communément appelée « lysat » regroupe l'ensemble des débris cellulaires produits au cours de la lyse virale (matériels cytoplasmique et structurel de la cel-

lule lysée). Sa quantité pourrait varier entre 0,1 et $8 \mu\text{gC.l}^{-1}.\text{j}^{-1}$, les concentrations les plus élevées étant enregistrées dans les milieux lacustres [2, 20]. D'ailleurs, dans les systèmes lacustres que nous étudions, typiquement le lac du Bourget, cette quantité atteindrait plus de $15 \mu\text{gC.l}^{-1}.\text{j}^{-1}$ à certaines périodes de l'année (données non publiées).

Étant donné le nombre très élevé des cellules non actives au sein des écosystèmes et celui des cellules probablement lysées par les virus, on pensait que le temps de renouvellement de ces cellules lysées était long et que le lysat était très peu utilisé par les bactéries. Ce n'est qu'en 2003, à partir des travaux de Middelboe *et al.* [21], qu'il a été montré que la lyse virale était une source de matière organique labile efficacement utilisée par la communauté bactérienne. En effet, selon ces auteurs, au bout de deux jours seulement, 28 % du lysat était converti en biomasse bactérienne non infectée, permettant ainsi d'avoir une bonne idée sur la vitesse d'assimilation des débris cellulaires par les bactéries. Toutefois, la majorité du matériel ne s'étant pas accumulé dans la biomasse, cela suggérerait que la plus importante fraction de lysat avait été catabolisée par la communauté bactérienne [22]. L'étude de Middelboe *et al.* [21] n'a pas mis seulement en évidence le recyclage de la MO, mais a également révélé une transformation du pool initial de la MO en lysat viral labile, plus facilement

accessible et consommable par des bactéries spécifiques qui ne présentaient pas une croissance rapide dans le pool de MOD initial. En d'autres termes, l'activité lytique virale semble promouvoir la coexistence de diverses populations bactériennes au sein de la communauté naturelle [21].

L'importance quantitative de la lyse virale dans le transfert du carbone a été estimée pour la première fois à partir du modèle de prédiction de Fuhrman [23]. Cet auteur a montré que l'activité lytique induisait une augmentation de 27 % de la production bactérienne, une baisse de 37 % de l'export du carbone bactérien vers le nanozooplancton et de 7 % vers le macrozooplancton. Ces travaux suggéraient que l'action lytique des virus augmente la production bactérienne mais diminue le transfert de carbone vers les échelons trophiques supérieurs (figure 3). Ces résultats ont été corroborés par les travaux de Wilhelm et Suttle [24] et Middelboe et Lyck [25], confirmant ainsi que le recyclage du carbone bactérien via la lyse virale impacte significativement le flux de carbone au sein des réseaux trophiques aquatiques.

La lyse virale est un mécanisme qui contribue significativement à fournir de la matière organique nécessaire au maintien de l'activité bactérienne et expliquerait la production bactérienne élevée, observée dans certains écosystèmes aquatiques par rapport à la production primaire. En effet, même si 50 % de la production primaire est recyclée

par les bactéries, elle n'explique pas à elle seule les valeurs de demande en carbone des bactéries, suggérant ainsi que d'autres voies de production de matière soutiendraient cette demande. En se fondant sur des calculs tenant compte des données de production virale et bactérienne, Wilhelm et Suttle [24] ont estimé que la lyse virale contribuait à entre 4 % et 30 % de la demande bactérienne en carbone dans le Golfe du Mexique et entre 80 % et 95 % dans le détroit de Georgia (États-Unis). Nos propres travaux sur le lac du Bourget suggèrent des valeurs oscillant entre 60 % et 70 % (données non publiées).

Par conséquent, le recyclage du carbone via la lyse virale réduirait la demande bactérienne quant au carbone phytoplanctonique et constituerait le lien manquant expliquant le rapport élevé entre la production bactérienne et la production primaire.

Dans le domaine benthique, les choses sont sensiblement différentes. En effet, la contribution de la lyse virale à la demande bactérienne en carbone est inférieure à 10 % [26]. En fait, la lyse virale serait une faible source de matière en comparaison du pool de matière benthique, qui est alimenté en continu par la sédimentation de la matière organique présente dans la colonne d'eau et par la redistribution de cette matière suite aux perturbations de la faune benthique et des phénomènes de remise en suspension [27].

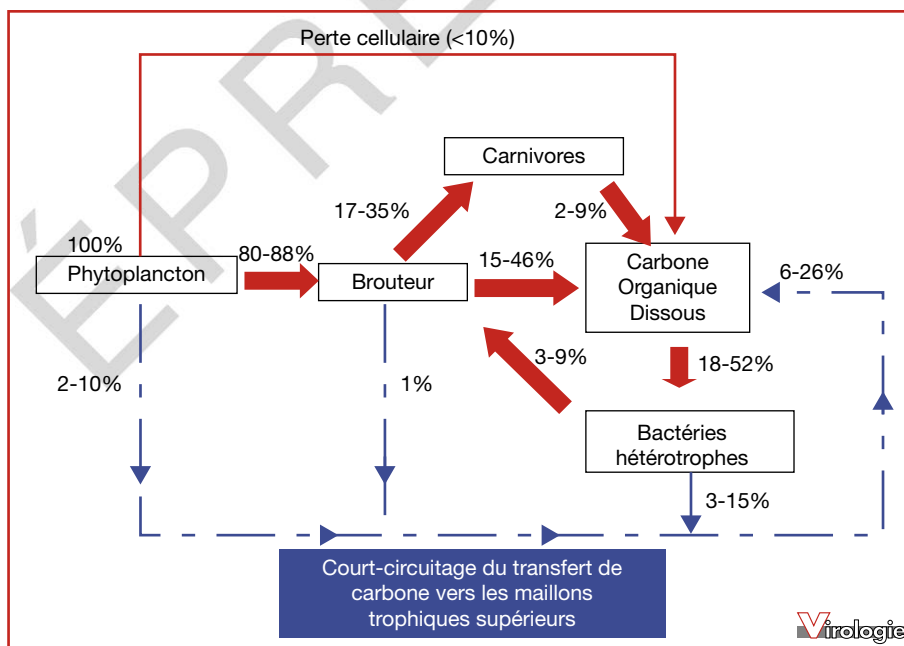


Figure 3. L'influence des virus sur le cycle du carbone marin (le court-circuit ou *shunt* viral) d'après le modèle de Wilhelm et Suttle [24]. Les valeurs correspondent au flux de carbone fixé au cours de la photosynthèse (100 %). Le modèle se fonde sur les hypothèses que (1) tout le carbone est respiré et que la perte due à l'export est négligeable et (2) que le COD est biodisponible pour les bactéries. La lyse virale libère dans le milieu des virions et de la MOD détournant ainsi 6 à 26 % du flux de carbone allant vers les consommateurs secondaires.

S'il ne fait plus aucun doute que le rôle des virus est important dans le flux de carbone au niveau des écosystèmes aquatiques, il l'est également dans le *turnover* de l'azote et du phosphore [11]. En effet, dans des conditions de limitation par le phosphore ou l'azote, les produits de la lyse virale stimuleraient la production primaire des communautés autotrophes [28, 29]. Paul *et al.* [28] avaient observé un pic de production bactérienne suivi d'un pic de production primaire au bout de 4 et 12 heures respectivement de libération d'ADN dans le milieu suite à une lyse virale, indiquant ainsi que ce processus de lyse était une source non négligeable de nutriments dans les systèmes microbiens et pouvait expliquer le fonctionnement de ces réseaux dans les milieux oligotrophes. Haaber et Middelboe [29] ont observé une accumulation de NH_4^+ durant la reminéralisation de la matière algale produite au cours de la lyse virale de *Phaeocystis pouchtii*, alors que, dans une culture parallèle contenant en plus une culture de *Rhodomonas salina* (non exposée à la lyse virale), la concentration de NH_4^+ restait relativement faible après une lyse massive de *P. pouchtii* par les virus, ce qui suggérait une assimilation directe du NH_4^+ libéré par *R. salina*.

Les différentes voies de connexion entre les virus et les cycles biogéochimiques restent relativement mal quantifiées, ce qui explique probablement et en partie que l'on ignore encore souvent le compartiment viral dans les modèles de flux de carbone. On estime, en considérant le nombre d'infections virales s'opérant chaque jour dans l'océan (de l'ordre de 10^{29} cellules), que près de 10^9 tonnes de carbone sont produites par an au cours de la lyse virale et remises à disposition du pool biologique.

La phagothérapie appliquée aux organismes aquatiques

L'histoire de la thérapie phagique est bien documentée [30]. Si l'on sait aujourd'hui que les traitements en milieu hospitalier sont envisagés pour lutter contre les maladies nosocomiales [31] en remplacement ou en complément des antibiotiques, que les virus sont utilisés dans l'industrie fromagère ou agricole pour le traitement préventif ou curatif d'infections bactériennes, on sait sûrement moins que l'utilisation de la thérapie phagique semble aussi être un moyen très encourageant dans le traitement des infections bactériennes en milieu aquatique, typiquement dans le domaine de l'aquaculture, et donc une bonne alternative à l'utilisation des antibiotiques dans ces systèmes.

Certains poissons ou crustacés sont étudiés depuis quelques années avec l'idée d'appliquer une thérapie à base de phages pour lutter contre leurs parasites bactériens. Les phages de bactéries pathogènes de certains poissons tels que *Aeromo-*

nas salmonicida, *A. hydrophila* ou encore *Yersinia ruckeri* ont été décrits mais aucune étude n'a été réalisée dans le contrôle de ces infections bactériennes chez les poissons. Wu et Chao [32] ont examiné l'effet du phage Φ ET-1 isolé d'un étang à Taïwan, sur *Edwardsiella tarda*. Lors d'expériences *in vitro*, ce phage pouvait lyser entre 25 et 75 souches d'*E. tarda* et réduisait le total des bactéries à moins de 0,1 % en seulement 8 heures (avec une concentration initiale de $1,2 \cdot 10^{12}$ bactéries. ml^{-1} et une multiplicité d'infection de 0,08), suggérant ainsi, et pour la première fois, l'applicabilité des phages dans le contrôle biologique de bactéries pathogènes infectant des poissons de culture. Il faudra cependant attendre la fin des années 1990 et les travaux de Nakai et Park [33] pour voir paraître les premières applications de thérapie phagique chez les poissons. En effet, au cours de leurs diverses expériences, ces auteurs ont montré qu'une administration orale ou par injection de phages permettait non seulement aux poissons infectés par *Lactococcus garvieae* de guérir, mais surtout que le traitement phagique pouvait constituer un moyen préventif contre d'autres infections bactériennes [33]. Ces résultats ont été corroborés par Imbeault *et al.* [34], au cours de l'étude de la thérapie phagique dans le traitement de la furunculose du saumon, provoquée par le pathogène *Aeromonas salmonicida*. Cependant, au cours d'un traitement phagique par administration orale ($1,88 \cdot 10^5$ pfu. g^{-1} .fish $^{-1}$.j $^{-1}$ pendant 30 jours) de saumons Atlantique infectés par la furunculose, et en comparaison avec un traitement antibiotique (10 mg.kg $^{-1}$.bw $^{-1}$.j $^{-1}$) [35], les résultats obtenus montraient une efficacité de traitement significativement meilleure des antibiotiques par rapport aux phages. Ces auteurs suggéraient que la furunculose chez le saumon Atlantique serait difficilement contrôlable par une application bactériophagique simple. Plus récemment encore, Ronnest *et al.* [36] ont isolé et caractérisé 22 phages infectant la bactérie pathogène *Flavobacterium psychrophylum* impliquée dans diverses maladies de la truite arc-en-ciel dans des fermes aquacoles danoises. Dix-huit des 22 phages étaient spécifiques de souche avec un degré d'infectiosité variable. Le fort pouvoir lytique, le temps de latence très court et la forte spécificité des phages isolés pour la bactérie pathogène permettent d'envisager une exploration approfondie de l'utilisation de ces bactériophages dans le traitement des maladies développées par le poisson cible. L'applicabilité de la thérapie phagique dans l'aquaculture des crevettes a également été étudiée [37]. Certaines bactéries telles que *Vibrio harveyi* peuvent affecter la santé et le développement des larves de crevettes, voire même causer leur mort. En raison de l'interdiction de l'utilisation des antibiotiques en aquaculture, il devenait nécessaire de trouver une alternative au contrôle des bactéries pathogènes dans ces systèmes. L'étude en microcosme de Karunasagar *et al.*, utilisant des larves de *Penaeus monodon* infectées par *V. harveyi*, a montré qu'un traitement phagique de

2.10^6 pfu.ml⁻¹ permettait la survie de 85 % des larves contre seulement 10 % dans le traitement témoin sans ajout de phages [37].

La thérapie phagique pourrait également être un moyen de traitement efficace de certaines maladies infectieuses chez les coraux. En effet, dans l'étude réalisée par Efrony *et al.* [38], des bactériophages ont été isolés de deux types de bactéries pathogènes : (1) *Vibrio coralliilyticus* (figure 4e) responsable de la lyse des tissus chez *Pocillopora damicornis* (figure 4a) et (2) *Thalassomonas loyaeana* (figure 4g) induisant le phénomène de blanchiment de *Favia fava* (figure 4c). En utilisant ces phages dans des aquariums contrôlés, ces auteurs ont observé que ces infections pouvaient être contrôlées par les virus spécifiques des bactéries pathogènes. Le phage se liait au pathogène dans l'eau et était apporté à la surface du corail, où il se multipliait par lyse bactérienne. Le phage restait associé au corail permettant ainsi de le prémunir d'autres infections.

Toutes les études publiées jusqu'ici semblent avoir démontré le potentiel de phages spécifiques à réduire significativement l'impact de pathogènes bactériens avec un impact positif sur la survie de la ressource à sauvegarder. L'efficacité de la thérapie phagique dépend d'un grand nombre de paramètres : pureté de la préparation phagique, mode d'action du phage (lytique vs lysogénique), spectre

d'action plus ou moins large, mode de résistance bactérienne, haut degré de diversité phénotypique et génétique des parasites et des pathogènes. Néanmoins, elle semble constituer, par sa spécificité (les phages n'infectant que des bactéries cibles contrairement aux antibiotiques), son temps de réponse court et son coût relativement modeste, une vraie promesse d'avenir dans le traitement de nombreuses maladies [31]. Une meilleure connaissance des taux d'adsorption, des spécificités virus-bactéries, du potentiel lytique sont donc plus que jamais requis en sachant qu'une phagothérapie efficace devra utiliser un groupe de phages ayant un spectre d'action assez large (on parle de cocktail) dans le but de couvrir l'ensemble des phénotypes bactériens impliqués dans la maladie.

Résistance microbienne aux phages

De nombreuses études ont montré que la lyse virale n'induisait en moyenne qu'entre 10 % et 20 % de mortalité bactérienne [9]. Ces faibles valeurs suggèrent le développement de mécanismes de défense des bactéries face aux infections virales. Ces mécanismes peuvent se traduire par : (i) une mutation de la structure des récepteurs membranaires empêchant la fixation des virus, (ii) la production d'ectoenzymes détruisant les protéines de la capsid des

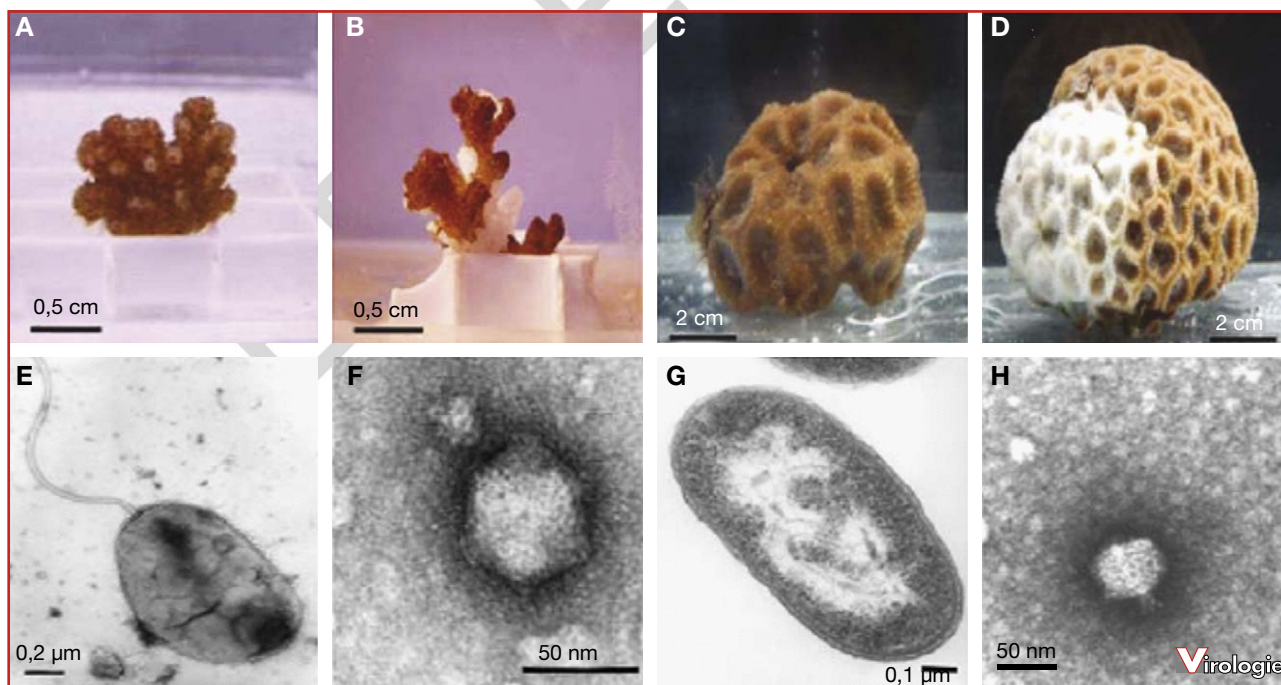


Figure 4. Photographies des coraux, bactéries pathogènes et phages utilisés dans l'étude de la phagothérapie réalisée par Efrony *et al.* [38]. *Pocillopora damicornis* sain (a) et partiellement lysé (b). *Favia fava* sain (c) et partiellement lysé (d). Photographies réalisées par microscopie électronique à transmission de *Vibrio coralliilyticus* (e), du phage YB2 (f), d'une section fine de *Thalassomonas loyaeana* (g) et du phage BA3 (h).

virus libres bien que la spécificité de cette production contre les virus ne soit pas prouvée, ou encore (iii) la délétion spontanée d'une partie du génome bactérien [11]. Récemment, un nouveau mécanisme de résistance bactérienne a été révélé au cours de l'étude d'Andersson et Banfield [39]. D'après ces auteurs, les bactéries ont la capacité d'intégrer des éléments génétiques particuliers provenant de séquences génomiques virales au niveau de loci appelés « regroupements de répétitions de courts palindromes régulièrement espacés » ou CRISPR (*clusters of regularly interspaced short palindromic repeats*), ce qui leur confère une résistance aux phages. Toutefois, le processus par lequel a lieu cette acquisition est inconnu. Plus extraordinaire encore, la stratégie du « Cheshire cat » découverte chez l'espèce phytoplanctonique *Emiliana huxleyi* par Frada *et al.* [40] et suspectée auparavant par Jacquet *et al.* [41]. Ces eucaryotes, très abondants dans les océans, ont un impact notable sur le cycle du carbone et, par voie de fait, sur le climat, en raison de leur capacité à produire une thèque calcaire lorsqu'ils sont sous forme diploïde. Cette espèce est capable de se transformer en cellule haploïde lorsque sa forme diploïde prépondérante est soumise à une attaque virale massive (*figure 5*). Cette transformation engendre des nouvelles cellules très actives mais surtout non calcifiantes difficilement détectables par les virus. En fait, la forme nue de l'espèce la rendrait totalement invisible aux virus, et lui permettrait donc de vivre en paix en attendant des temps meilleurs. Cette stratégie du « Cheshire cat » a été désignée ainsi en référence au roman *Alice aux pays des merveilles* de Lewis Carroll : le Chat du Cheshire, malin et philosophe, échappe à l'ordre de décapitation de la Reine de cœur en rendant son corps transparent !

La mise en évidence de bactéries ayant acquis la capacité de résistance à l'infection virale a conduit à un paradoxe.

En effet, si la résistance bactérienne aux virus évolue rapidement, on pourrait penser que les bactéries mutantes (résistantes) finissent par dominer au sein des communautés au détriment des cellules sensibles et cela conduirait tout naturellement à l'extinction des phages [11]. Toutefois, les observations dans les milieux naturels suggèrent plutôt la coexistence entre ces deux types de populations qui résulterait d'un compromis entre la capacité de compétition et la réduction de la mortalité. En d'autres termes, la mutation de certains groupes bactériens serait accompagnée d'une réduction de leur compétitivité [42]. On parle de « coût de la résistance » et le type de mutation détermine le type de coût. En effet, des expériences ont montré que les mutations qui confèrent une résistance aux phages T4 et T7 présentaient un coût à la résistance plus important que celles qui n'étaient résistantes qu'aux phages T4 [42]. Au contraire, Bohannan *et al.* [43] ont observé que le coût de la résistance était moins important pour les cellules résistantes à deux types de phages (T4 et lambda) que dans le cas de celles résistantes à un seul type de phages (T4 ou lambda). L'environnement également peut être déterminant dans l'évolution du coût de la résistance comme cela semble être le cas chez certaines souches d'*E. coli* qui peuvent présenter un coût de résistance différent suivant que le milieu est limité en glucose ou en carbohydrate trihalose [44].

L'hypothèse de l'existence d'une résistance à l'infection virale chez les microalgues a été émise pour la première fois par Waterbury et Valois [45] dans l'étude des relations entre cynaophages et picocyanobactéries du genre *Synechococcus*. Depuis, cette immunité possible vis-à-vis de l'infection virale a été observée dans de nombreux groupes tels que les radiophytes [46], les diatomées [47] ou encore les prasinophytes [48] : elle ne semble pas résulter d'une infection chronique (pseudolysogénie) ou d'une latence

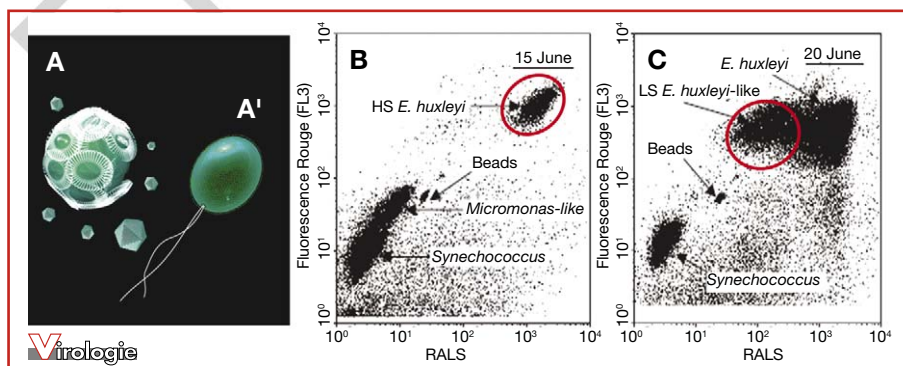


Figure 5. La transition de la cellule diploïde calcifiante (A) à la cellule haploïde, non-calcifiante et flagellée (A') permet d'échapper à l'attaque des virus. Le sexe est donc une stratégie anti-virale chez le coccolithophore *Emiliana huxleyi* [40]. Cela avait déjà été suspecté par Jacquet *et al.* [41] en observant le changement de signature cytométrique d'*E. huxleyi* associé à une forte production virale. Ce changement était traduit par le passage d'*E. huxleyi* de la forme calcifiée (HS *E. huxleyi*) (B) à la forme nue (LS *E. huxleyi*) (C). HS *E. huxleyi* : diffusion élevée de coccolithophore (*high scatter coccolithform*) ; LS *E. huxleyi* : faible diffusion de coccolithophore (*low scatter coccolithform*), RALS : diffusion à angle droit (*right angle light scatter*).

des virus mais plutôt d'une variabilité intraspécifique dans la sensibilité à l'infection virale. Par exemple, Zingone *et al.* [48] ont observé un recouvrement quasi total par les virus à la surface de la souche MpVN1 de *Micromonas pusilla* (*Prasinophyceae*) (figure 6A), au bout de 20 minutes d'incubation, alors qu'aucun virus n'apparaît à la surface de la souche MpPart de la même espèce (figure 6B). Thyraug *et al.* [49] ont également montré pour plusieurs espèces qu'il pourrait exister un inhibiteur de l'action virale lytique, secrété par les cellules lysées au sein d'une population donnée (figure 7). Les quelques cellules n'ayant pas

subi la lyse transformeraient alors leurs récepteurs membranaires de manière à ne plus être sensibles au virus environnant présent ayant décimé leurs congénères.

L'apparition de populations résistantes aux phages peut induire un changement dans l'environnement, la dynamique et la structure des communautés microbiennes ; toutefois l'omniprésence d'infections virales dans les milieux naturels laisse penser que cette immunité est fragile et que les populations soumises à ces attaques mettent en place des systèmes de mutation-recombinaison afin de maintenir un équilibre et une stabilité entre les différentes communautés.

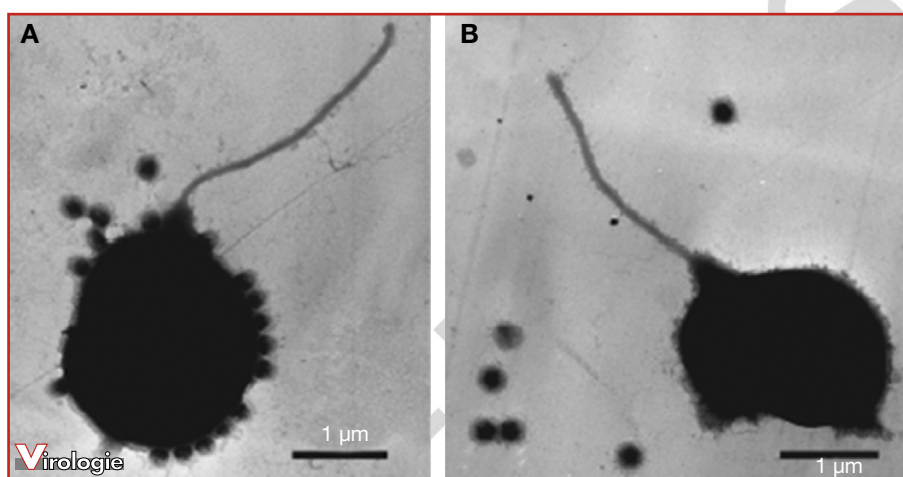


Figure 6. Photographies réalisées par microscopie électronique à transmission de *Micromonas pusilla* et du virus MpVN1 [48]. (A) La souche sensible Mp1 incubée avec MpVN1. (B) La souche résistante MpPart incubée avec MpVN1.

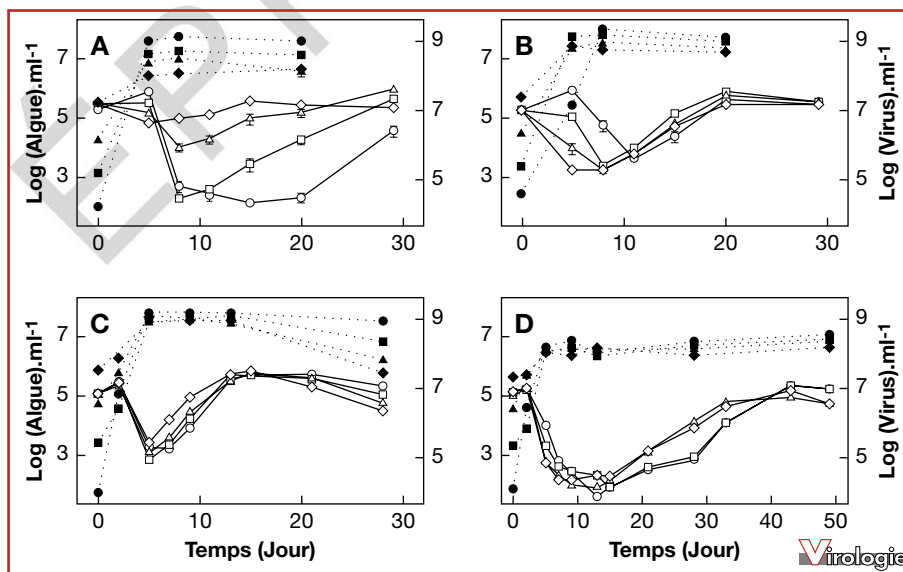


Figure 7. Dynamiques des algues (○) *Emiliana huxleyi* (A), *Chrysochromulina ericina* (B), *Pyramimonas orientalis* (D), *Phaeocystis pouchetii* (E) et des virus (●) ajoutés à t₀, respectivement EhV-99B1 (A), CeV-01B (B), PoV-01B (C) et PpV-01 (D) mesurées au cours de l'étude de Thyraug *et al.* [49]. Quatre différents rapports virus : hôte ont été utilisés : 100 (□, ◇), 10 (▲, △), 1 (■, ▢) et 0.25 (○, ●).

Conclusion

Les virus interviennent dans de nombreux processus : transferts horizontaux de gènes, lysogénie associée à l'acquisition de performances métaboliques ou d'immunité, recyclage biogéochimique, contrôle de la biomasse ou terminaison d'efflorescence algale. Les interactions entre compartiments biologiques sont souvent complexes et certaines ont été largement ignorées dans l'explication ou la modélisation du fonctionnement des écosystèmes jusqu'à maintenant. Nous avons décrit pour l'essentiel l'action des virus sur les autres entités biologiques, surtout les bactéries, mais retenons ici que de nombreuses interactions sont possibles entre virus et cellules hôtes. Toutes les études réalisées durant ces 20 dernières années dans le domaine de l'écologie virale ont mis en évidence l'omniprésence des virus et leur rôle prépondérant dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques. La modélisation des flux de carbone impliquant les virus est devenue une nécessité dans la compréhension de l'évolution des cycles biogéochimiques. En effet, il est admis aujourd'hui que, par leur activité lytique, les virus dévient le transfert de la production bactérienne vers les niveaux trophiques supérieurs, contribuant efficacement à la conversion de la biomasse en pool de matière organique dissoute [9]. Paradoxalement, ce court-circuit viral induit une hausse de la production bactérienne en augmentant la quantité de matière organique labile biodisponible pour la croissance bactérienne. Au-delà du fait que la communauté scientifique reconnaît clairement l'impact majeur des virus sur l'efficacité de fonctionnement des réseaux trophiques aquatiques, la diversité microbienne ou encore les cycles biogéochimiques, de nombreuses zones d'ombres subsistent. En effet, il est difficile à l'heure actuelle de dire si les virus agissent en tant que stimulateurs ou freins de la production biologique, d'estimer la proportion exacte de matière qui est remise à disposition ou qui est exportée vers les eaux profondes via l'agrégation, d'établir l'influence des fonctions physiologiques virales sur les cycles biogéochimiques et par voie de fait sur tout le réseau trophique aquatique, *in fine* de définir clairement le rôle des virus dans la relation entre stabilité des écosystèmes, fonctionnement et diversité [11]. Il est donc essentiel d'améliorer nos connaissances sur l'écologie virale, d'autant plus que le rôle potentiel des virus dans l'évolution a été réévalué récemment, après la découverte surprenante que le plus gros virus connu à ce jour, Mamavirus, était lui-même parasité par un autre virus appelé Sputnik [50]. Des approches combinant écologie virale, mesures biogéochimiques, métagénomique et modélisation permettront sans nul doute de préciser le rôle des virus sur la biodiversité et la biogéochimie de la planète bleue, et de répondre à la question : les virus, anges ou démons ?

Remerciements. Les commentaires des relecteurs extérieurs ont été fortement appréciés par les auteurs. LB est soutenue par une bourse de thèse dans le cadre d'une coopération franco-algérienne. Le département EFPA de l'Inra est également remercié pour le soutien financier accordé aux travaux de LB. Cet article est une contribution au programme ANR Biodiversité AQUAPHAGE.

Références

1. Bergh O, Borsheim KY, Bratbak G, Heldal M. High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature* 1989 ; 340 : 467-8.
2. Weinbauer MG, Höfle MG. Significance of viral lysis and flagellate grazing as factors controlling bacterioplankton production in eutrophic lake. *Appl Environ Microbiol* 1998 ; 64 : 431-8.
3. Simek K, Weinbauer MG, Hornak K, Jezbera J, Nedoma J, Dolan J. Grazer and virus induced mortality of bacterioplankton accelerates development of *Flectobacillus* populations in freshwater community. *Environ Microbiol* 2007 ; 9 : 789-800.
4. Weinbauer MG, Rassoulzadegan F. Are viruses driving microbial diversification and diversity? *Environ Microbiol* 2004 ; 6 : 1-11.
5. Thingstad TF, Lignell R. Theoretical models for the control of bacterial growth rate, abundance, diversity and carbon demand. *Aquat Microbiol Ecol* 1997 ; 13 : 19-27.
6. Jacquet S, Heldal M, Iglesias-Rodriguez D, Larsen A, Wilson W, Bratbak G. Flow cytometric analysis of fan *Emiliana huxleyi* bloom terminated by viral infection. *Aquat Microbiol Ecol* 2002 ; 27 : 111-24.
7. Weinbauer MG, Hornák KN, Jezbera J, Nedoma J, Dolan JR, Šimek K. Synergistic and antagonistic effects of viral lysis and protistan grazing on bacterial biomass, production and diversity. *Environ Microbiol* 2007 ; 9 : 777-88.
8. Bouvier T, del Giorgio PA. Key role of selective viral-induced mortality in determining marine bacterial community composition. *Environ Microbiol* 2007 ; 9 : 287-97.
9. Wommack KE, Colwell RR. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol Mol Biol R* 2000 ; 64 : 69-114.
10. Jiang SC, Paul JH. Viral contribution to dissolved DNA in the marine environment as determined by differential centrifugation and kingdom probing. *Appl Environ Microbiol* 1995 ; 57 : 2197-204.
11. Weinbauer MG. Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiol Rev* 2004 ; 28 : 127-81.
12. Saye DJ, Ogunstein OA, Sayler GS, Miller RV. Potential for transduction of plasmids in natural freshwater environment: effect of plasmid donor concentration and a natural microbial community on transduction in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Microbiol* 1987 ; 53 : 987-95.
13. Saye DJ, Ogunseintan OA, Sayler GS, Miller RV. Transduction of linked chromosomal genes between *Pseudomonas aeruginosa* strains during incubation in situ in a freshwater habitat. *Appl Environ Microbiol* 1990 ; 56 : 140-5.
14. Chiura HX. Generalized gene transfer by virus-like particles from marine bacteria. *Aquat Microbiol Ecol* 1997 ; 13 : 75-83.
15. Waldor MK, Mekalanos JJ. Lysogenic conversion by filamentous phage encoding cholera toxin. *Science* 1996 ; 272 : 1910-4.
16. Mann N, Cook A, Millard A, Bailey S, Clokie M. Marine ecosystems: bacterial photosynthesis genes in a virus. *Nature* 2003 ; 424-741.
17. Jiang SC, Paul JH. Significance of lysogeny in the marine environments: studies with isolates and a model of lysogenic phage production. *Microbiol Ecol* 1998 ; 35 : 235-43.
18. Weinbauer MG, Christaki U, Nedoma A, Simek K. Comparing the effects of resource enrichment and grazing on viral production in meso-eutrophic reservoir. *Aquat Microbiol Ecol* 2003 ; 31 : 137-44.

19. Middelboe M. Bacterial growth rate and marine virus host dynamics. *Microbial Ecol* 2000 ; 40 : 114-24.
20. Wilhelm SW, Brigden SM, Suttle CA. A dilution technique for the direct measurement of viral production : a comparison in stratified and tidally mixed coastal waters. *Microbial Ecol* 2002 ; 43 : 168-73.
21. Middelboe M, Riemann L, Steward GL, Hansen V, Nybroe O. Virus-induced transfer of organic carbon between marine bacteria in a model community. *Aquat Microbial Ecol* 2003 ; 33 : 1-10.
22. Noble RT, Fuhrman JA. Breakdown and microbial uptake of marine viruses and other products. *Aquat Microbial Ecol* 1999 ; 20 : 1-11.
23. Fuhrman JA. Bacterioplankton roles in cycling of organic matter : the microbial food web. In : Falkowski PG, Wohead AD, eds. *Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea*. Plenum Press New York, 1992 : 361-83.
24. Wilhelm SW, Suttle CA. Viruses and nutrient cycles in the Sea – Viruses play critical roles in the structure and function of aquatic food webs. *Bioscience* 1999 ; 49 : 781-8.
25. Middelboe M, Lyck PG. Regeneration of dissolved organic matter by viral lysis in marine microbial communities. *Aquat Microbial Ecol* 2002 ; 27 : 187-94.
26. Middelboe M, Glud RN, Finster K. Spacial distribution of viruses and relation to bacterial activity in coastal marine sediment. *Limnol Oceanogr* 2006 ; 48 : 1447-56.
27. Fenchel T, Glud R. Benthic primary production and O₂-CO₂ dynamic in a shallow water sediment : spatial and temporal heterogeneity. *Ophelia* 2000 ; 53 : 159-71.
28. Paul JH, DeFlaun MF, Jeffrey WH, David AW. Seasonal and diel variability in dissolved DNA and in microbial biomass and activity in subtropical estuary. *Appl Environ Microbiol* 1988 ; 54 : 718-27.
29. Haaber J, Middelboe M. *Viral lysis of Phaeocystis pouchetii: implication for algal population dynamics and heterotrophic C, N and P cycling*. *The ISME J*, 2009 [info page supprimée : 17517362](#).
30. Chanishvili N, Chanishvili T, Tediashvili M, Barrow PA. Phages and their application against drug resistant bacteria. *J Chem Tech Biot* 2001 ; 76 : 689-99.
31. Jacquet S. Infectiologie bactérienne : quelle place pour la phagothérapie ? *Virologie* 2008 ; 12 : 1-3.
32. Wu JL, Chao WJ. *Isolation and application of a new bacteriophage, ΦET-1, which infect Edwardsiella tarda, the pathogen of Edwardsiellosis*. *CAPD Fish Ser*, 1982 [info page supprimée : 8](#).
33. Nakai T, Park SC. Bacteriophage therapy of infectious diseases in aquaculture. *Res Microbiol* 2002 ; 153 : 13-8.
34. Imbeault S, Parent S, Blais JF, Lagacé M, Uhland C. Utilisation de bactériophages pour contrôler les populations de *Aeromonas salmonicida* résistantes aux antibiotiques. *Rev Sci Eau* 2006 ; 19 : 275-82.
35. Verner-Jeffreys DW, Algoet M, Pond MJ, Virdee HK, Bagwell NJ, Roberts EG. Furunculosis in Atlantic Salmon (*Salmo Salar* L.) is not readily controllable by bacteriophage therapy. *Aquaculture* 2007 ; 270 : 1-4.
36. Ronnest Stenholm A, Dalsgaard I, Middelboe M. Isolation and characterization of bacteriophages infecting the fish pathogen *Flavobacterium psychrophylum*. *Appl Environ Microbiol* 2008 ; 74 : 4070-8.
37. Karunasagar I, Shivu MM, Girisha SR, Krohne G, Karunasagar I. Biocontrol of pathogens in shrimp hatcheries using bacteriophage. *Aquaculture* 2007 ; 268 : 1-4.
38. Efrony R, Loya Y, Bacharach E & Rosenberg E. Phage therapy of coral disease. *Coral Reefs* 2007 ; 26 : 7-13.
39. Andersson AF, Banfield JF. Virus population dynamics and acquired virus resistance in natural microbial communities. *Science* 2008 ; 320 : 1047-9.
40. Frada M, Probert I, Allen MJ, Wilson WH, de Vargas C. The “Cheshire cat” strategy of the coccolithophore *Emiliana huxleyi* in response to viral infection. *PNAS* 2008 ; 105 : 15944-8.
41. Jacquet S, Heldal M, Iglesias-Rodriguez D, Larsen A, Wilson W, Bratbak G. Flow cytometric analysis of an *Emiliana huxleyi* bloom terminated by viral infection. *Aquat Microb Ecol* 2002 ; 27 : 111-24.
42. Lenski RE. Experimental studies of pleiotropy and epistasis in *Escherichia coli* 1. Variation in competitive fitness among mutants resistant to vifs-T4. *Evolution* 1988a ; 42 : 425-32.
43. Bohannan BJM, Travisano M, Lenski RE. Epistatic interactions can lower the cost of resistance to multiple consumers. *Evolution* 1999 ; 53 : 292-5.
44. Bohannan BJM, Lenski RE. Effect of resource enrichment on a chemostat community of bacteria and bacteriophage. *Ecology* 1997 ; 78 : 2303-15.
45. Waterbury JB, Valois FW. Resistance to co-occurring phages enables marine *Synechococcus* communities to coexist with cyanophages abundant in seawater. *Appl Environ Microbiol* 1993 ; 59 : 3393-9.
46. Lawrence JE, Chan Am, Suttle CA. A novel virus (HaNIV) causes lysis of the toxic bloom-forming alga *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *J Phycol* 2001 ; 37 : 216-22.
47. Nagasaki K, Tomura Y, Nakanishi K, Hata N, Katanozaka N, Yamaguchi M. Dynamics of *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) and its viruses in ago Bay, Japon. *Aquatic Microbial Ecology* 2004b ; 34 : 219-26.
48. Zingone A, Natale F, Biffali E, Borra M, Forlani G, Sarno D. Diversity in morphology, infectivity, molecular characteristics and induced host resistance between two viruses infecting *Micromonas pusilla*. *Aquat Microb Ecol* 2006 ; 45 : 1-14.
49. Thyraug R, Larsen A, Thingstad TF, Bratbak G. Stable coexistence in marine algal host-virus systems. *Mar Ecol Prog Ser* 2003 ; 254 : 27-35.
50. La Scola B, Desnues C, Pagnier I, Robert C, Barrassi L, Fournous G, et al. The virophage as a unique parasite of the giant mimivirus. *Nature* 2008 ; 454 : 100-4.