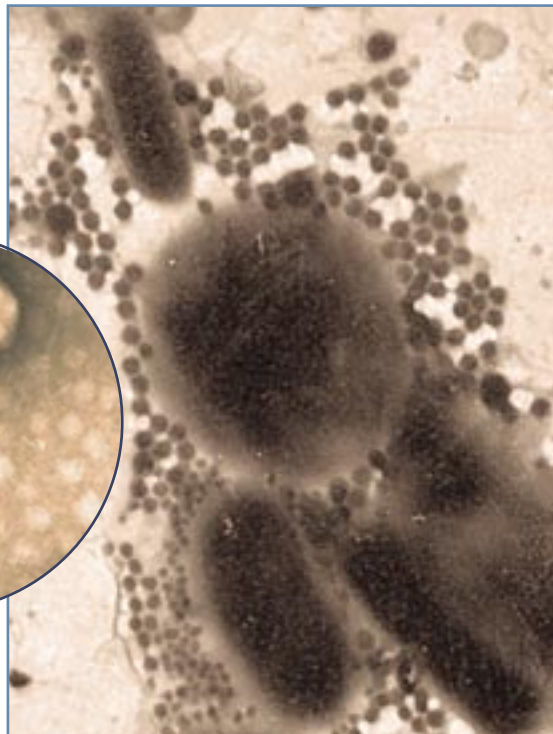
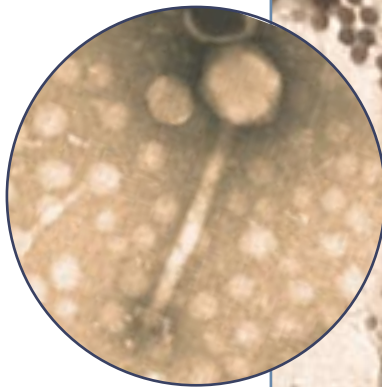


■ **EN DEUX MOTS** ■ L'existence et l'abondance des virus aquatiques ont été longtemps méconnues. Aujourd'hui on pense qu'il en existe probablement des centaines de milliers d'espèces. Et les techniques

d'exploration du génome nous dévoilent les multiples interactions qu'entretiennent ces virus avec leurs hôtes, les bactéries et les micro-algues qui sont au cœur des cycles biogéochimiques de la planète.

## • Les VIRUS, chefs d'orchestre aquatiques



**CES BACTÉRIES MASSIVES**, ainsi que les virus qui les entourent (petits points sombres), proviennent du Raunefjord, à 20 kilomètres au sud de Bergen, en Norvège. Le bactériophage à la longue queue typique (en cartouche) provient, lui, du lac Pavin, en Auvergne.

© MIKAL HELDAL - JONATHAN COLOMBET

Ils sont présents à raison de 1 à 1 000 millions d'individus dans une cuillère à café d'eau de mer ou d'eau douce ! Pourtant, on commence tout juste à apprécier l'importance des virus aquatiques dans la biodiversité bactérienne, voire le climat.

**Stéphan Jacquet** est chargé de recherche à l'INRA de Thonon-les-Bains. Il a créé et anime le réseau Ravage (Réseau français de virologie aquatique en génomique et écologie).  
jacquet@thonon.inra.fr

**Sébastien Personnic** achève sa thèse dans l'équipe de Stéphan Jacquet.

**O**céans, mers, estuaires, golfes, lacs, rivières, lagunes, glaces, sédiments : les virus aquatiques sont partout. Qui plus est, en quantité phénoménale : 1 million à 1 milliard de particules par millilitre ! Soit, pour une cuillère à café d'eau marine ou d'eau douce, de 1 à 1 000 millions de virus... Pourtant, il y a seulement vingt ans, leur existence était considérée comme anecdotique. Il faut dire que les équipements permettant de repérer les plus petits des organismes aquatiques étaient alors peu nombreux, et que les microbiologistes spécialistes d'écologie aquatique préféraient concentrer leurs efforts sur les bactéries, elles-mêmes peu connues dans ces biotopes. Aussi, lorsque deux microbiologistes de l'université de l'Oregon livrèrent en 1979 la première estimation semi-quantitative de virus présents dans les eaux de Yaquina Bay, au nord-ouest des États-Unis, leurs résultats ne reçurent-ils pas grand écho [1]. Il fallut attendre 1989 pour

que soient publiés les premiers résultats de microscopie électronique à transmission témoignant du foisonnement de virus dans différents milieux aquatiques [2].

### Abondance

Les auteurs de ces travaux, Mikal Heldal et ses collaborateurs de l'université de Bergen, en Norvège, avançaient alors le chiffre de 4 à 10 millions de virus par millilitre d'eau, qualifiant dans la foulée les virus d'entité biologique la plus abondante de notre planète : plus importante en nombre que les bactéries ! L'hypothèse fut validée dans les années qui suivirent, grâce à l'essor des techniques de dénombrement – la microscopie électronique à transmission, la microscopie à épifluorescence, ou encore la cytométrie en flux. Il apparut aussi que cette abondance varie considérablement selon la profondeur, l'éloignement des côtes ou encore le statut trophique de l'écosystème (lire « Des virus partout », ci-contre).

Les scientifiques, s'ils furent surpris, furent aussi satisfaits par ces découvertes. Car jusque-là certains phénomènes de mortalité bactérienne échappaient à l'explication classique: il était impossible de les imputer uniquement à l'action prédatrice des eucaryotes ciliés ou flagellés du zooplancton. Les virus constituaient un coupable plausible. En effet, ils ont impérativement besoin d'un organisme hôte pour se reproduire, et les bactéries semblaient d'excellents candidats. D'une part, en raison de leur abondance. Dans l'océan, leur densité moyenne avoisine  $10^8$  à  $10^9$  par litre (beaucoup plus dans certaines zones, beaucoup moins dans d'autres), ce qui en fait les plus nombreux des hôtes potentiels. Sachant que la rencontre entre un virus et son hôte est le fait du hasard, cette abondance est un paramètre clé. D'autre part, les observations de terrain montraient que l'abondance bactérienne était le meilleur facteur prédictif de l'abondance virale.

Très vite, au début des années 1990, des particules virales furent effectivement visualisées au sein de diverses bactéries aquatiques. Et l'on estime aujourd'hui que les virus spécifiques des bactéries (les «bactériophages» ou, plus simplement, «phages») sont les plus nombreux des virus aquatiques. Ils ne sont toutefois pas les seuls: d'autres virus infectent les micro-algues du phytoplancton, c'est-à-dire les eucaryotes unicellulaires capables d'effectuer la photosynthèse.

De tous ces virus nous ne connaissons encore aujourd'hui qu'une infime fraction. Car l'expérimentateur est confronté au même problème que celui posé pour bien des virus et bactéries «terrestres»: la difficulté à les faire proliférer *in vitro*. Dès lors, comment les identifier? Le développement de la «métagénomique» apporte une réponse. Cette approche d'étude de la biodiversité consiste à séquencer tout l'ADN

présent dans un échantillon donné. La comparaison des séquences obtenues avec celles déjà répertoriées dans les bases de données met alors en évidence les organismes nouveaux.

Une telle investigation a été menée avec succès en 2006, par des collègues américains et canadiens [3]. Ils ont passé au crible 184 échantillons collectés au cours des dix années passées, dans 68 sites répartis dans la mer des Sargasses, le golfe du Mexique, les côtes de Colombie britannique et l'océan Arctique. Résultat: 91 % de toutes les séquences virales repérées étaient jusque-là inconnues! Qui plus est, leur ana-

lyse a montré que la plupart d'entre elles étaient présentes dans les différents biotopes étudiés, mais en proportions variables. Voilà qui conforte l'idée que chaque région a son

propre «biome viral» (on parle aussi de «virome»). L'adage selon lequel «tout est partout, mais l'environnement sélectionne» est ainsi vérifié. Pour les auteurs de l'étude, il existe probablement des centaines de milliers d'espèces virales dans l'océan, très largement distribuées à travers le monde, avec quelques régions contenant la majorité d'entre elles.

## Saisonnalité

Des centaines de milliers d'espèces de virus à des concentrations souvent considérables! Quel peut donc être leur impact sur les populations de bactéries ou d'algues infectées? L'exemple des populations de *Vibrio cholerae*, bactéries responsables du choléra, est parlant. En 2005, Shah Faruque et ses collaborateurs de l'International Center for Diarrhoeal Disease Research de Dacca, au Bangladesh, ont étudié la dynamique de deux souches de *Vibrio cholerae*, pour mieux comprendre la saisonnalité des épidémies de choléra [4]. Ils ont vu que l'augmentation de bactéries ⇒

## 91 % des séquences virales repérées par l'analyse génomique étaient inconnues

## GÉOGRAPHIE

## Des virus partout

■ Globalement, l'abondance des virus aquatiques croît avec la productivité des systèmes. On rencontre des concentrations moyennes de  $10^4$  à  $10^6$  particules par millilitre dans l'océan profond (mais avec des pics dépassant largement  $10^6$  dans certains coins de l'océan profond ou de certains lacs), de  $10^5$  à  $10^7$  particules par millilitre dans l'eau de surface des zones *offshore* et de  $10^6$  à  $10^8$  particules par millilitre dans les zones côtières. Dans les zones estuariennes et dans les lacs très productifs, les concen-

trations peuvent dépasser les  $10^8$  particules par millilitre d'eau. C'est également le cas dans un milieu aussi extrême que les glaces de l'océan Arctique: les concentrations virales peuvent être supérieures à  $10^8$  particules par millilitre. Mais, de manière générale, la quantité de virus est plus importante dans les milieux d'eau douce que dans les milieux marins. Quant aux sédiments, ils sont eux aussi très riches en virus, en particulier à leur surface. Dans un gramme, on y trouve de  $0,03$  à  $12 \times 10^9$  particules virales.



L'ANALYSE D'ÉCHANTILLONS D'EAU prélevés à la surface du glacier Midre Løvenbreen, au Spitzberg (ci-dessus), a révélé la présence de bactéries infectées par des virus.

© CHRISTIN SAWSTROM/UMEA UNIV., SWEDEN

[1] F. Torrella et R.Y. Morita, *Appl. Environ. Microbiol.*, 37, 774, 1979.

[2] O. Bergh et al., *Nature*, 340, 467, 1989.

[3] F. Angly et al., *PLoS Biol.*, 4(11), e406, 2006.

[4] S.M. Faruque *et al.*, *PNAS*, 102, 1702, 2005 ; S.M. Faruque *et al.*, *PNAS*, 102, 6119, 2005.

[5] T.F. Thingstad et R. Lignell, *Aquatic Microbial Ecology*, 13, 19, 1997.

[6] S. Jacquet *et al.*, *Aquatic Microbial Ecology*, 27, 111, 2002.

⇒ pathogènes correspond dans un premier temps à une diminution du nombre des virus spécifiques de ces bactéries. Dans un second temps, le nombre de phages augmente, suivi peu après par un déclin de l'épidémie. Puis la population bactérienne augmente à nouveau. Ce phénomène cyclique tient à l'augmentation exponentielle du nombre de virus une fois que la quantité de bactéries hôtes atteint un certain seuil. Arrive un moment où les phages finissent par avoir raison de ces bactéries – ce qui, indirectement, entraîne la baisse de leur propre population.

Voilà qui illustre un concept fondamental en écologie virale aquatique : « Que le vainqueur meure ! » Élaboré en 1997 par Frede Thingstad, de l'université de Bergen, en Norvège, il permet d'expliquer la coexistence, dans le temps, d'espèces bactériennes dominées avec des espèces dominantes [5]. Le fait qu'une population bactérienne donnée ne puisse, à cause des phages, croître à l'infini lorsqu'elle se trouve dans des conditions favorables, permet en effet la conservation d'une diversité bactérienne maximale en dépit des fluctuations environnementales favorisant tantôt une population, tantôt une autre. Pour Frede Thingstad : « Les virus, qui sont le plus souvent spécifiques de l'espèce, voire de la souche, sont donc les



EN PROVOQUANT LE MÉLANGE entre eau potable et excréments, les inondations (ici au Bangladesh) favorisent les épidémies de choléra. Les populations de bactéries cholériques sont régulées par des virus.

© PAVEL RAHMAN/AP PHOTO/SIPA

*candidats privilégiés pour maintenir cette biodiversité planctonique, qui est longtemps restée une énigme scientifique.* » Parce qu'elle permet d'expliquer la survie de multiples espèces dans des milieux où les ressources sont souvent limitées, et qu'elle a été plusieurs fois observée en conditions expérimentales, la théorie « killing the winner » est aujourd'hui largement acceptée par les aquavirologistes.

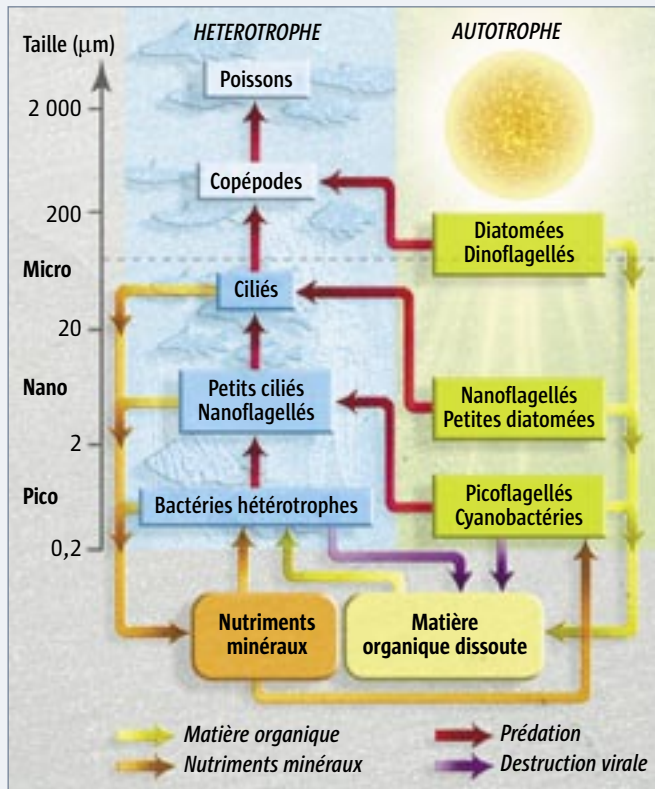
## Agent de biodiversité

Cette théorie vaut aussi lorsque les cibles de l'infection sont des micro-algues. L'équipe de Keizo Nagasaki, de la « Fisheries Research Agency » au Japon, et l'un d'entre

nous alors dans l'équipe de Gunnar Bratbak, en Norvège [6], avons en effet montré que l'infection virale est, après la saisonnalité, l'un des facteurs les plus importants qui affectent la dynamique des algues, autrement dit la taille et la périodicité de leurs efflorescences. L'algue phytoplanctonique *Heterosigma akashiwo* constitue un exemple particulièrement frappant. Chaque année, sa prolifération dans la baie d'Hiroshima provoque la mort de milliers de tonnes de poissons. Mais chaque année également des virus ramènent les populations algales à des dimensions plus modestes, venant ainsi au secours des pêcheurs. En régulant les populations, les virus contribuent donc au maintien

## ALIMENTATION Réseau trophique

■ **LES ORGANISMES DU PHYTOPLANCTON** (en vert) sont à la base de la chaîne trophique classique : ils fabriquent leur propre matière organique en fixant le dioxyde de carbone atmosphérique par photosynthèse et puisent dans l'eau des minéraux (en orange). La matière organique dissoute qu'ils libèrent (en jaune) sert de nourriture aux bactéries hétérotrophes, incapables d'effectuer la photosynthèse. Ces bactéries sont ensuite consommées par des nanoflagellés et des petits ciliés prédateurs, qui chassent aussi les plus petits organismes photosynthétiques (cyanobactéries et picoflagellés). Les petits prédateurs sont ensuite la proie de plus grands – et ainsi de suite. À chaque stade, des débris organiques (non figurés ici) et des nutriments minéraux sont relâchés. Les virus jouent un rôle fondamental dans cette chaîne : en détruisant les bactéries hétérotrophes, les cyanobactéries, et certains autres organismes photosynthétiques, ils enrichissent le pool de matière organique dissoute.



© INFOGRAPHIE SYLVIE DESSERT

de la diversité des bactéries et des algues. Mais il se pourrait bien qu'ils interviennent aussi dans la genèse régulière d'une nouvelle biodiversité. Comment? En favorisant les transferts de gènes entre bactéries. En effet, la mort des bactéries, conclusion de l'infection virale, libère des fragments d'ADN bactérien qui peuvent être récupérés par d'autres bactéries. Par ailleurs, les virus qui infectent un hôte peuvent incorporer une partie de son matériel génétique au leur, et l'injecter ensuite à une autre cible.

Un exemple particulièrement intéressant de tels transferts de gènes intervient entre les bactéries *Prochlorococcus* ou *Synechococcus* et leurs phages respectifs. Toutes deux jouent un rôle écologique de première importance : ces bactéries photosynthétiques, ou cyanobactéries, accomplissent une grande part de la photosynthèse océanique, laquelle représente la moitié de la photosynthèse planétaire. Or, en 2003, Nick Mann et ses collaborateurs de l'université de Warwick en Grande-Bretagne ont montré que les phages infec-

qui se traduit par l'arrêt de l'activité photosynthétique bactérienne au bout d'un certain temps, et donc par l'arrêt de toute activité métabolique. Le maintien de l'activité photosynthétique, induit par les deux gènes véhiculés par le phage, est donc tout bénéfique pour ce virus : il peut continuer à utiliser la machinerie cellulaire pour se répliquer jusqu'au dernier moment [10]. Cela montre que si les populations bactériennes peuvent se diversifier et évoluer grâce à leurs interactions avec les phages, l'inverse est également vrai.

## Action sur le climat

L'impact des virus aquatiques ne s'arrête pas là. En tuant 10% à 50% de la biomasse bactérienne produite chaque jour, ils interviennent sur ces processus fondamentaux que sont les cycles biogéochimiques [11]. En effet, bon nombre des bactéries qu'ils infectent sont au cœur de ces cycles. Il s'agit des bactéries hétérotrophes : dépourvues de toute capacité photosynthétique, elles se procurent leurs ressources énergétiques en consommant une fraction importante des déchets du phytoplancton, ou des débris générés par d'autres organismes. Ainsi nourries, ces bactéries prolifèrent, et produisent du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) qui est ensuite restitué à l'atmosphère.

Dès lors, on discerne l'impact potentiel des bactériophages : en tuant ces bactéries hétérotrophes, ils diminuent la quantité de CO<sub>2</sub> relargué dans l'atmosphère. Sans eux, l'effet de serre engendré par le CO<sub>2</sub> serait donc plus important qu'il ne l'est ! Peut-être exercent-ils également cet effet modérateur via leur action létale sur l'algue unicellulaire photosynthétique *Emiliana huxleyi*. Très abondante par endroits, par exemple dans l'Atlantique Nord, cette algue peut former de très grandes efflorescences bien visibles par satellite. Quand elle meurt, elle libère du sulfure de diméthyle, ou DMS, qui une fois oxydé dans l'atmosphère devient

un aérosol sulfuré favorisant la condensation de gouttelettes d'eau dans l'atmosphère. Le DMS favorise ainsi la formation de nuages, qui exercent un « effet parasol » antagoniste de l'effet de serre. En tuant *Emiliana*, les virus contribueraient donc à l'effet parasol...

Certes, les données manquent encore pour déterminer l'impact des virus aquatiques sur la biodiversité d'une part, sur la machine climatique d'autre part. Quoi qu'il en soit, il est à parier que les virus aquatiques seront bientôt considérés avec une attention digne de celle aujourd'hui réservée aux bactéries ! ■ S. J. et S. P.

[7] M.R.J. Clokie *et al.*, *FEMS Microbiol. Ecol.*, 46, 349, 2003.

[8] N.H. Mann *et al.*, *Nature*, 424, 741, 2003.

[9] D. Lindell *et al.*, *PNAS*, 101, 11013, 2004.

[10] D. Lindell *et al.*, *Nature*, 438, 86, 2005.

[11] J.A. Fuhrman, *Nature*, 399, 541, 1999.



**CES EFFLORESCENCES TURQUOISE** de l'algue *Emiliana huxleyi* au large des Cornouailles ont été visualisées par satellite, grâce à la lumière réfléchie par sa coquille calcaire. Sa destruction par certains virus aquatiques aboutit à la libération de sulfure de diméthyle, qui exerce un effet parasol antagoniste de l'effet de serre. © LANDSAT 7 IMAGE PROCESSING BY STEVE GROOM, PLYMOUTH MARINE LABORATORY

tant *Synechococcus* pouvaient intégrer jusqu'à 8% de l'ADN de leur hôte [7]. Plus étonnant encore, ces phages possèdent deux gènes codant des composants clés de l'appareil photosynthétique de la bactérie [8]. Ce constat vaut également chez *Prochlorococcus*, comme l'a montré en 2004 l'équipe de Sallie Chisholm, au Massachusetts Institute of Technology [9].

L'hypothèse la plus probable est qu'ils les ont récupérés chez leur hôte, puis les ont gardés. Il faut dire que l'expression de ces protéines codées par le génome viral permet aux cellules infectées de passer outre le phénomène dit de « photosensibilisation ». Un phénomène

### POUR EN SAVOIR PLUS

- Curtis Suttle, *Nature*, 437, 356, 2005.
- Christon Hurst (dir.), *Viral Ecology*, Academic Press, 2000.
- Edward DeLong, « Mille milliards de mille microbes », *La Recherche*, juillet-août 2002, p. 54.
- <http://virusecologie.free.fr/index.htm>
- [www.thonon.inra.fr/EWAPE1/index.htm](http://www.thonon.inra.fr/EWAPE1/index.htm)
- [www.bio.utk.edu/wilhelm/SCOR.html](http://www.bio.utk.edu/wilhelm/SCOR.html)
- [www.phage.org](http://www.phage.org)