



**HAL**  
open science

# Influence des communautés environnantes sur le risque de maladie de l'huître creuse dans les écosystèmes marins

Elyne Dugény

► **To cite this version:**

Elyne Dugény. Influence des communautés environnantes sur le risque de maladie de l'huître creuse dans les écosystèmes marins. *Ecologie, Environnement*. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2021. Français. NNT : 2021BRES0065 . tel-04213495

**HAL Id: tel-04213495**

**<https://theses.hal.science/tel-04213495>**

Submitted on 21 Sep 2023

**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° 598  
*Sciences de la Mer et du littoral*  
Spécialité : « *Écologie marine* »

Par

**Élyne DUGÉNY**

## **Influence des communautés environnantes sur le risque de maladie de l'huître creuse dans les écosystèmes marins**

Thèse soutenue à Plouzané, le 7 septembre 2021

Unité de recherche : Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR) UMR 6539

### **Rapporteurs avant soutenance :**

**Sophie GAUDRIAULT** Directrice de Recherche  
INRA  
DIGMI (UMR 1333)

**Guillaume MITTA** Professeur  
Université de Perpignan UPVD  
IHPE (UMR 5244)

### **Composition du Jury :**

**Gwenaëlle LEBLAY** Professeure des Universités UBO  
Présidente du jury  
LEMAR (UMR 6539)

**Sophie GAUDRIAULT** Directrice de Recherche INRA  
Rapporteur  
DIGMI (UMR 1333)

**Guillaume MITTA** Professeur UPVD  
Rapporteur  
IHPE (UMR 5244)

**Ana LOKMER** Chargée de Recherches MNHN  
Éco-anthropologie (UMR 7206)

**Ika PAUL-PONT** Chargée de Recherches CNRS  
LEMAR (UMR 6539)

**Fabrice PERNET** Directeur de Recherches IFREMER  
Directeur de thèse  
LEMAR (UMR 6539)

**Yannick GUEGUEN** Directeur de Recherches IFREMER  
Co-encadrant de thèse  
IHPE (UMR 5244)

**Bruno PETTON** Ingénieur de Recherches IFREMER  
Co-encadrant de thèse  
LEMAR (UMR 6539)



Le contrat doctoral a bénéficié d'une allocation de Recherche Doctorale ARED LABEX de la Région Bretagne, adressée aux établissements porteurs de projets de thèses.

Le projet VIVALDI dans lequel s'intègre la thèse a été financé avec le soutien du programme de l'Union européenne pour la recherche et l'innovation H2020 dans le cadre de la subvention n° 678589, pour l'excellence en science et le leadership industriel.

Le DLAL FEAMP, qui a contribué à l'accomplissement de ce travail, accompagne les projets collectifs et innovants en faveur des filières pêche et aquaculture du Pays de Brest et est destiné à soutenir les actions et décisions au plus près du terrain en faveur de la pêche et de l'aquaculture et à favoriser une gouvernance maritime pilotée par les acteurs locaux.

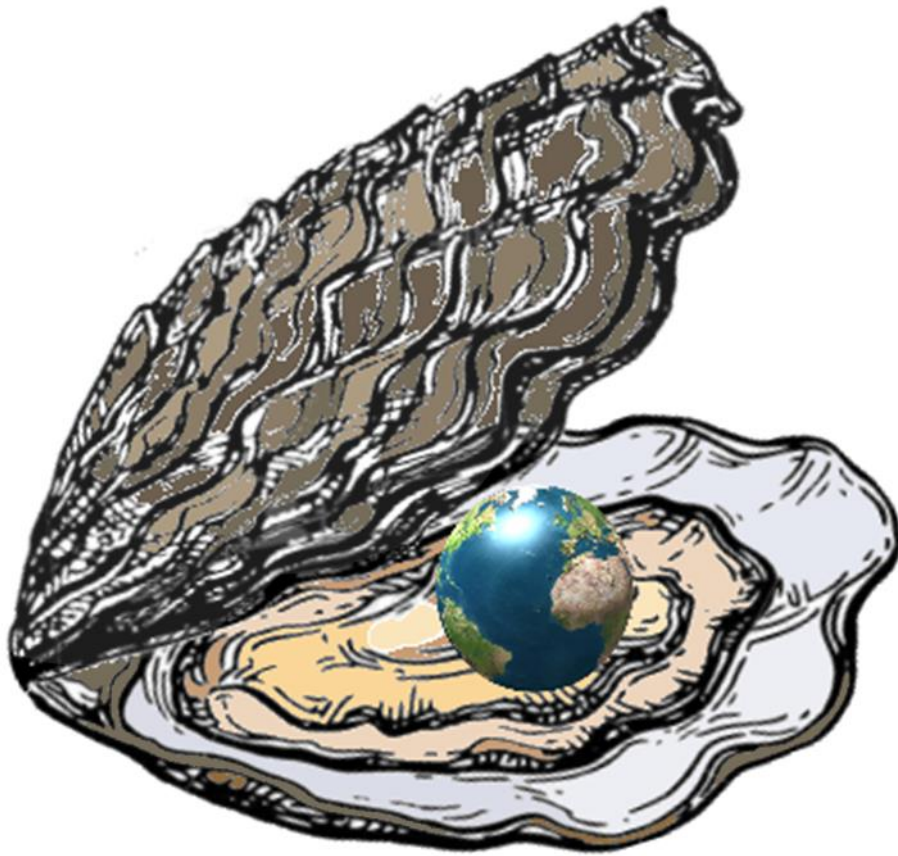
UNION EUROPÉENNE  
UNANIEZH EUROPA



**L'Europe s'engage en Bretagne** / Avec le Fonds européen pour les affaires maritimes et la pêche



*“The world is your oyster”*



*William Shakespeare, The Merry Wives of Windsor (1597 - 1599)*

À ma chère famille,

# Remerciements

---

Je tiens, dans un premier temps, à remercier les organismes financeurs de cette thèse. Merci à la Région Bretagne, pour l'allocation de Recherche Doctorale ARED LABEX. Merci au projet européen VIVALDI et ses partenaires et au soutien du programme de l'Union européenne, pour la recherche et l'innovation H2020, dans le cadre de la subvention n° 678589. Enfin, merci au DLAL FEAMP, pour l'accompagnement aux projets collectifs et innovants en faveur des filières pêche et aquaculture du Pays de Brest.

Je remercie infiniment les personnes qui ont accepté d'évaluer mon travail en constituant mon jury de thèse. Merci à Gwenaëlle Leblay, Ika Paul-Pont, Ana Lokmer, Sophie Gaudriault et Guillaume Mitta pour ces discussions constructives à l'issue de ma soutenance et pour vos conseils d'amélioration. Particulièrement, merci à vous deux, Sophie Gaudriault et Guillaume Mitta d'avoir été les rapporteurs de mon manuscrit de thèse, pour vos retours et remarques pertinentes qui m'ont permis de retravailler ce manuscrit et d'appréhender la portée de mon travail.

J'aimerais ensuite remercier les personnes qui ont accepté de faire partie de mon Comité de Suivi Individuel de thèse. Merci donc à Stéphane Pouvreau, Isabelle Arzul, Francis Orvain, Marion Richard, Valérie Stiger-Pouvreau, Elodie Fleury et Bruno Petton, pour tous les échanges fructueux et les nombreuses discussions, qui ont bien souvent contribué à recentrer la réflexion et à apporter de très bonnes idées pour la mise en place des expériences.

---

On entend souvent dire qu'effectuer une thèse est un vrai défi et qu'il faut bien réfléchir avant de se lancer dans une pareille aventure. En effet, même en écoutant les différents retours d'expérience qu'il peut être donné d'entendre, je crois qu'il est impossible de prévoir ce qu'il peut advenir et de savoir à quoi réellement s'attendre. Je pense que chaque thèse est unique et qu'aucune n'est comparable, car elle dépend spécifiquement de l'individu et des personnes qui l'entoureront tout au long de cette expérience.

Dans mon cas l'enrichissement intellectuel que m'ont procuré ces années est sans égal. Un apprentissage immense autant sur le plan scientifique, qu'humain. Cette thèse m'a permis de prendre de la hauteur, de savoir prendre du recul sur beaucoup de choses, de me révéler les éléments et les valeurs qui importent réellement dans une vie. Elle m'a permis de mûrir, de grandir et m'a fait comprendre que, même malgré des failles, à force de volonté, de convictions et de cœur, rien n'est réellement insurmontable. Comme Marie Curie le disait si bien « Dans la vie rien n'est à craindre, tout est à comprendre » et je crois qu'elle a absolument raison. Quel que soit le chemin emprunté, il est important de toujours garder à l'esprit ses convictions, car la motivation est un moteur dans la vie.

Mais cette expérience et le chemin parcouru jusqu'ici n'auraient pu se faire sans l'influence de nombreuses personnes, pour lesquelles ma considération est immense. Le fruit de ce travail est le résultat de bon nombre d'interactions, de discussions, d'expérimentations, de réflexions et de collaborations, qui se sont faites au gré de cette thèse. Ainsi, c'est par ces quelques phrases que je souhaite, de tout mon cœur, témoigner à ces personnes toute ma

gratitude, bien que j'aie conscience que ces mots n'expliqueront jamais à la perfection mon véritable ressenti.

---

Tout d'abord, je souhaiterais remercier toutes les personnes du LPI de l'Ifremer pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire et m'avoir fait découvrir ce qu'est vraiment la Recherche.

Merci Fabrice, de m'avoir sélectionnée pour cette thèse et de m'avoir permis de mener ce travail qui m'a passionnée. J'espère que tu es satisfait du travail que nous avons mené jusqu'ici et que nous allons encore continuer à valoriser. Merci pour tout ce que tu m'as appris au cours de cette thèse.

Merci à toi Bruno, de m'avoir épaulée tout au long de mes manip à la station d'Argenton, de m'avoir guidée, conseillée et donné des tas d'astuces pour s'assurer du bon déroulement d'une expérience en milieu contrôlé. J'ai pu acquérir de solides capacités de travail dans un contexte expérimental grâce à toi. Je te remercie aussi pour tout ce que tu as partagé avec moi hors du cadre de ma thèse, les mots en breton que tu m'as appris et les endroits que tu m'as fait découvrir au retour d'excursions de terrain, dans cette magnifique région qu'est le Finistère. Merci à Jacqueline de m'avoir formée en microbio et à l'étalement sur milieu de culture. Merci à toi Isa, pour ta rigueur et ton organisation, toujours pointilleuses, qui sont essentielles au bon déroulement des travaux menés à la station. Merci Matthias, pour l'infailible soutien lors des manip, pour nos longues discussions sur la Nouvelle-Calédonie, ainsi que tous les autres voyages imaginaires que l'on a fait en partageant des souvenirs. Un grand merci Clément, pour avoir passé beaucoup de temps à broyer des huîtres par centaines pour les étalements bactériens sur milieu de culture. Merci beaucoup également Moussa, pour toute ton aide apportée pour nourrir les animaux des expériences au quotidien, sans cela il n'y aurait pas d'expérience qui tourne si bien. Merci à Florent qui a été de passage à Argenton et qui m'a aussi apporté une aide précieuse et s'est avéré être un très bon co-voit pour tous les trajets effectués de Brest à Porspoder. Merci Marianne, de m'avoir permis de rester parfois assez tard dans ma salle expérimentale et d'être revenue le soir pour fermer la station derrière moi. Merci à Stéphane, Carole et Sébastien pour votre bonne humeur au quotidien et tous les chouettes échanges que nous avons pu avoir autour de repas ou de pauses.

À Plouz', je remercie également toute la seconde partie de l'équipe. Merci à Christine, de m'avoir formée en Biomol et accompagnée maintes fois à la paillasse. Merci à Claudie, de m'avoir montré comment doser les réserves glucidiques et d'avoir parfois pris de ton temps pour discuter avec moi. Merci Valérian, de m'avoir expliqué la séparation des classes de lipides et pour ta bonne humeur au quotidien, qui apporte beaucoup de joie au labo. Merci Virgile, pour toute l'aide que tu m'as apportée dans les divers traitements d'échantillons. Merci Philippe, pour ta bienveillance, tes bons conseils et ton écoute. Merci Pierrick, pour toute l'aide apportée et ta volonté de toujours trouver des solutions à tout. Merci à Véronique, qui m'a de nombreuses fois bien aidée pour toutes les tâches administratives parfois labyrinthiques. Merci Arnaud, pour tes bons conseils, tes encouragements et pour toutes les discussions ayant pour but de refaire le monde. Merci Charlotte pour ton énergie impressionnante et pour m'avoir confortée dans l'idée que la transmission des savoirs est une



chose essentielle et que l'on a raison de s'y investir. Merci Élodie pour tous ces bons moments et ces rires autour d'un café ou d'un repas.

Merci à Lizenn, qui a partagé mon bureau pendant ma première année de thèse, qui m'a accueillie au LPI, m'a guidée sur de nombreux aspects, surtout au début et m'a transmis plein de bons conseils que j'utiliserai encore tout au long de ma vie en Sciences ; et surtout merci de m'avoir montré que venir au centre Ifremer à vélo était plus que faisable ! Une quantité importante d'émissions carbone a pu être évitée pendant ces trois années grâce à cela... Et le vélo reste ma solution transport n°1 !

Merci à Céline, pour ton amitié et ton soutien pendant ma deuxième année de thèse. Avec Fabien, que je remercie aussi pour tous ces bons moments, nous en avons passé du temps à Terraformer Mars, souvent en ayant en plus partagé de délicieux repas. Merci à toi, Mathieu, pour ta complicité, ton précieux soutien au quotidien, tes encouragements, ton oreille attentive, ta bonne humeur et tout simplement, la personne que tu es. Merci Coline, pour tous ces bons moments échangés, même si j'avais déjà l'esprit un peu ailleurs depuis le commencement de ta thèse, sache que je les ai beaucoup appréciés. Merci à Jonathan, mon premier et unique stagiaire, pour ton aide, ta motivation et ton intérêt envers mon sujet de thèse et le travail mené.

A l'Ifremer, je remercie toute l'équipe de la Communication, avec laquelle j'ai eu la chance d'intervenir pour plusieurs évènements de médiation, une activité qui me tient énormément à cœur et qui fait écho à mes convictions. Je remercie donc Martina, Jade, Laetitia, Maud, du pôle médiation, pour leur disponibilité et leur passion de partager la Science. Merci à Ambre et Olivier, du pôle image, pour les tournages de Web-série et les images prises. Merci à Arthur et Théo, pour la communication externe et toute la visibilité qu'ils m'ont permis d'avoir pendant ma thèse.

Au LEMAR, je remercie toutes les personnes qu'il m'a été donné de côtoyer pour mon sujet de thèse mais aussi pour la réalisation des enseignements à l'UBO. Réaliser cette mission de monitorat en parallèle à ma thèse m'a beaucoup apporté et m'a confortée dans ma volonté d'enseigner tout en travaillant dans la Recherche.

Je remercie également les équipes de l'IHPE, de m'avoir accueillie en mobilité dans les laboratoires des Universités de Perpignan et Montpellier. Merci Yannick, pour avoir organisé ma venue à l'IHPE, pour ton implication dans ma thèse, mais aussi pour ta patience, ta bienveillance, ta disponibilité indéfectible et ton oreille attentive. Ton soutien a amplement contribué à ma motivation. Merci à Eve, d'avoir accepté que je vienne avec mes échantillons d'ADN en train, pour assister à leur séquençage à la plateforme BioEnvironnement. Merci de m'avoir guidée tout au long du processus menant au séquençage, pour ta patience, toutes tes explications et la création d'arbres phylogénétiques en lignes de commandes. Merci Julien pour ton implication dans mon travail, pour tout ce temps passé avec moi pour m'expliquer le RNAseq, le fonctionnement de plusieurs logiciels qui me sont désormais utiles au quotidien pour mes analyses. Merci à Hajar, Janan, Jean, Pierre-Louis, Etienne, Mathilde et Daniel pour tous ces bons moments passés à Montpellier.

---

S'engager dans une thèse de doctorat est un véritable challenge et la grande difficulté réside à tenir la cadence sur la durée. En ce sens, le soutien est fondamental pour un doctorant et il

est donc essentiel d'être bien entouré pour avancer. Sur ce point, je mesure la chance que j'ai et voudrais, du fond du cœur, remercier toutes les personnes qui m'ont entourée et encouragée, parfois même sans s'en rendre compte.

Au LEMAR, la liste est longue et je remercie toutes les personnes avec qui j'ai beaucoup interagi, aussi en dehors du cadre institutionnel, pour les amitiés qui se sont créées ; les repas du mercredi à l'IUEM que nous avons instaurés pour garder le « lien LEMAR » malgré le grillage Ifremer ; les initiations aux danses du monde, notamment avec Justine, Pauline, Chloé, Natalia et William, aux danses de Rock n' Roll avec Nico ; les cours de yoga entre filles avec notre coach perso Natasha, et de pilâtes avec *el professor* Jordan et ses psoas, et tous les très bons moments passés ensemble, à rire de tout et n'importe quoi (merci pour tes blagues Nico), à partager de bons apéros chez Marc et Natalia... Ah les bons souvenirs que voila !...

Je te remercie Bastien pour ton amitié sincère et inconditionnelle, ton soutien au quotidien, ta sensibilité et la garantie de toujours passer d'excellents moments avec toi. Que ce soit sur le plan scientifique, ludique ou gastronomique, j'apprécie toujours énormément nos échanges et le temps partagé entre BBB (Best Brest Bro' m'ah man !). Je n'oublierai jamais cette veillée jacuzzi après ma soutenance et nos discussions interminables jusqu'à 4h du matin, où nous avons partagé nos points de vue et refait le monde (surtout celui des thésards), du pur bonheur ! Merci à Timothé, Alex, Camille et Clara, pour votre amitié inaltérable depuis la licence, au cours de laquelle nous avons fait nos premiers pas dans le monde Universitaire, tous ensembles. Alex et TimTim, merci à vous deux d'être venus au bout du monde pour célébrer ma soutenance, j'ai beaucoup apprécié vous avoir près de moi et merci beaucoup pour vos délicates attentions et vos cadeaux. Merci Estelle, mon amie d'enfance et partenaire de théâtre, d'être toujours prête à venir sur Brest dès qu'un évènement le permet et de toujours m'encourager dans tout ce que j'entreprends. T'avoir dans mon entourage pour ma soutenance m'a comblée de bonheur également. Enfin, merci aux amis brestoïis, Julie, Louis, Lise et Delphine avec qui j'aurais aimé partager plus de choses encore, si le temps était extensible...

---

J'adresse également un grand merci à l'ensemble des membres de ma Famille.

Ma famille, c'est aussi ces formidables personnes qui font désormais partie de ma vie depuis une dizaine d'années, j'ai nommé : les Gauff (prononcé avec accent allemand **bavarois**, obligé). Nadya, Uwe et Anissa, vous avoir près de moi lors de ma soutenance m'a rendu si heureuse ! Je vous suis énormément reconnaissante pour le long voyage que vous avez fait pour venir m'encourager. Mais au-delà de votre venue, j'aimerais aussi vous remercier pour tous les moments que vous nous avez fait vivre et toutes les merveilleuses choses partagées, l'Hiver ou l'Été, au Printemps ou à l'Automne, pour tous ces magnifiques voyages, toutes ces belles soirées, qu'elles soient en France autour d'un excellent barbecue ou en Allemagne autour d'une délicieuse bière bavaroise, pour Pâques, Noël, le jour de l'an ou Oktoberfest... Tous ces bons moments passés avec Romain, Sophie, Nuage, Franziska et Myriam, mais aussi Markus' Famille, que de réjouissances ! Merci d'être de si belles personnes ! J'espère que vous êtes autant heureux que moi de faire partie de la même famille ! Anissa, merci de ton soutien dans les moments difficiles que j'ai pu avoir sur la fin et dont tu as été témoin. Je suis sûre que si on se voyait plus souvent, on serait sans doute de grandes confidentes mutuelles. Pardon

de ne pas trouver facilement de temps pour téléphoner, le téléphone et moi, c'est comme pour ton frère, ça fait deux... Mais on s'améliore !

Ensuite, j'adresse mes plus chaleureux remerciements à mes familles maternelle et paternelle. Merci à vous tous de toujours faire en sorte d'être une famille soudée, de préserver cette complicité entre tous et cette bonne entente. L'univers familial dans lequel j'ai grandi a amplement contribué à mon épanouissement, moi qui ai un besoin constant d'être rassurée. Evoluer dans un cercle aussi bienveillant vaut de l'or et plus encore.

Et encore une fois, vous avez prouvé votre bienveillance et votre soutien sans faille lors de la soutenance de ma thèse. Merci infiniment Philippe et Mamie, Mag, Jéré et Jéré, de vous être déplacés pour moi et d'avoir tant aidé à l'organisation des réjouissances post-soutenance et contribué aux délicieux mets qui ont accompagné les célébrations. Vous avoir près de moi pour ce moment si particulier m'a rendue incroyablement heureuse ! Merci Mamie pour le délicieux pâté ! Encore merci pour la production de bière Jéré, merci Mag pour les belles étiquettes qui ont orné les bouteilles, je te remercie d'être toujours là pour moi comme l'est une grande sœur et merci à toi aussi Jéré pour ta bienveillance et pour toujours contribuer à la bonne ambiance. J'ai été si heureuse d'avoir pu vous montrer un petit bout du Finistère et d'avoir observé un phoque en pleine chasse ! Et que dire de la météorite ?! Un signe du ciel... Enfin merci à vous, Jérôme, Séverine, Nan, Daniel, Corine, Alexandre, Clément, Winny et Laurence d'avoir suivi ma soutenance à distance ! A toi, ma tata et marraine, merci du fond du cœur pour ton joli cadeau que je porte chaque jour au plus près de mon cœur. Encore un immense merci à tous, pour votre présence et tous vos présents à l'issue de ma soutenance ! Notre chère Mamie Bobotte est partie peu après le rendu de mon manuscrit et peu avant la soutenance, et j'ai beaucoup pensé à elle lors de cet événement. J'aurais aimé qu'elle puisse y assister mais je suis sûre que de son vivant, elle a été sans doute très heureuse de voir à quel point sa famille est belle, soudée et humaine, et doit être fière de sa succession qu'elle lègue au monde.

Je souhaite vous remercier de tout mon cœur Sylvain et Noélie, qui êtes et resterez un pilier dans ma vie, de par votre simple complicité. Un immense merci pour votre amour, votre joie de vivre au quotidien, pour tous ces délires, « running gags » et blagues (« exceeellentes ! ») en tout genre (« *parmigiano* ? »), pour votre disponibilité, à toujours trouver le moyen de venir à l'autre bout de la France (ou ailleurs, qui sait...) pour une petite visite, ce qui me procure toujours un immense bonheur. Merci à vous deux pour votre implication dans cette dernière ligne droite et vos relectures. Merci Sylvain pour le petit tuto Word qui s'est avéré salvateur et qui, ma foi, s'avèrera fort utile pour encore longtemps par la suite ! À vous enfin, Maman et Papa, j'adresse un immense merci, aussi immense que votre amour que vous m'avez apporté toutes ces années. Encore une fois, c'est votre bienveillance qui nous porte, nous, vos trois enfants, et je vous remercie pour les magnifiques personnes que vous êtes, parmi mes plus grandes sources d'inspiration dans la vie.

A vous, ma chère famille, cette thèse vous est dédiée.

Enfin, je suis infiniment reconnaissante envers la personne qui, au-delà de partager mon quotidien et ma vie m'apporte un amour et un soutien inconditionnel et infailible. Un immense MERCI à toi, Robin, pour toute l'aide, le soutien, les encouragements, l'assistance et

le support que tu me procures à l'infini. Nous avons été amis avant d'être amoureux et c'est la raison pour laquelle nous sommes bien plus qu'un couple, de véritables partenaires, coéquipiers, complices, aux nombreuses passions communes qu'on ne fait plus l'un sans l'autre. La plongée, la voile, le kayak, l'escalade, les soirées gaming, les soirées cocoonings (en compagnie de Groggy lors des longues soirées d'hiver), les excursions en pleine Nature dans n'importe quel pays, les découvertes, les brunchs, les dîners épicuriens et toutes les délicieuses préparations que nous faisons pour le plaisir unique de les partager tous les deux !  
Merci d'être mon âme sœur et de vivre ton quotidien à mes côtés ! Tu es toujours présent pour moi et sache que la réciprocité est bien vraie et que je serai toujours là pour toi aussi.

---

A vous tous, au-delà de vos nombreuses contributions à ce travail et apports en tout genre que je n'oublierai jamais, merci pour tous ces échanges, ces moments partagés, ces sourires, votre bonne humeur, votre humour, votre soutien, votre humanité !

# Table des matières

---

Introduction générale.....	27
État de l'art.....	33
I. Définitions et concepts en Écologie .....	34
I.1. Les écosystèmes.....	34
I.2. La biocénose des écosystèmes .....	34
I.3. La biodiversité dans les écosystèmes .....	36
I.4. Les interactions biotiques .....	39
I.5. Les maladies infectieuses et leur transmission dans les écosystèmes.....	45
II. L'huître creuse comme modèle d'étude.....	53
II.1. Origines et histoire.....	53
II.2. Biologie de l'huître creuse .....	56
II.3. Écologie de l'huître creuse.....	66
II.4. Epizooties rencontrées par l'huître creuse.....	74
II.5. Facteurs de risques abiotiques sur la maladie de l'huître creuse .....	96
III. L'huître et les communautés environnantes de son écosystème.....	103
III.1. Influence d'autres espèces de filtreurs suspensivores .....	103
III.2. Influence potentielle des macroalgues marines sur la faune littorale .....	106
IV. Objectifs de la thèse.....	119

Chapitre 1 .....	125
I. Introduction.....	129
II. Material and methods .....	131
II.1. Living organisms.....	131
II.2. Experimental design.....	133
II.3. Sampling.....	137
II.4. Analyses .....	137
II.5. Statistics .....	142
III. Results.....	143
III.1. Oyster survival and OsHV-1 .....	143
III.2. Bacterial microbiota.....	145
III.3. Oyster transcriptome response .....	149
III.4. Gross physiology .....	151
IV. Discussion .....	151
V. Supplementary information .....	156
V.1. File S1. Laboratory analyses .....	156
V.2. File S2. Tables and figures .....	158
VI. References.....	170
VII. Conclusions principales .....	177

Chapitre 2 .....	179
I. Introduction.....	183
II. Material and methods .....	186
II.1. Living organisms.....	186
II.2. Experimental design.....	188
II.3. Sampling.....	190
II.4. Analyses .....	191
II.5. Statistics .....	194
III. Results.....	196
III.1. Oyster survival.....	196
III.2. Virus concentration.....	198
III.3. Oysters and green algae bacterial microbiota.....	199
III.4. Gross physiology of oysters after acclimation to green algae.....	206
IV. Discussion .....	207
V. Supplementary information .....	211
VI. References.....	218
VII. Conclusions principales .....	225

<u>Discussion générale .....</u>	<u>227</u>
I. Influence des algues vertes <i>Ulva spp.</i> sur les huîtres.....	229
I.1. Caractérisation de l'effet des algues vertes sur les organismes.....	229
I.2. Causes probables de la perturbation induite par les algues vertes .....	235
I.3. Propositions d'études complémentaires en milieu contrôlé .....	238
II. Caractériser l'influence des algues vertes en milieu naturel.....	239
II.1. Réalisme du terrain quant à l'interaction entre huîtres et algues vertes .....	239
II.2. Proposition d'étude complémentaire à mener par la suite .....	242
III. Conclusion générale.....	243
<u>Références.....</u>	<u>247</u>
<u>Bilan de la thèse.....</u>	<u>285</u>



# Liste des figures

---

## État de l'art

---

**Figure 1.** Influence des paramètres environnementaux sur les hôtes et les agents pathogènes dans le milieu marin (Burge et al., 2014).

**Figure 2.** Illustration hypothétique du 'principe Anna Karenine' montrant des perturbations induisant une déstabilisation du microbiome. Le graphique de gauche présente un microbiote relativement stable possédé par des hôtes sains (clusters serrés dans l'espace d'ordination). Le graphique de droite, au contraire, témoigne d'un microbiote perturbé par divers facteurs de stress externes, entraînant une plus grande dispersion (déplacement de ces groupes dans l'espace d'ordination) (Zaneveld et al., 2017).

**Figure 3.** Proposition de schéma de l'implication de la dysbiose microbienne, des pathogènes opportunistes et des interactions polymicrobiennes dans la maladie des organismes marins. (A) La surface d'un organisme marin sain (hôte sain) est colonisée par un consortium de micro-organismes commensaux, qui peuvent inclure des bactéries, des archées, des micro-eucaryotes et des virus. (B) Dans des conditions de pression environnementale élevée, l'hôte peut être stressé, ce qui a un impact négatif sur ses mécanismes de défense. Sur cet hôte sensible, des pathogènes opportunistes ou des consortiums pathogènes dans le cas d'une infection polymicrobienne prolifèrent, entraînant un état de dysbiose microbienne. (C) Les pathogènes microbiens, ainsi que les saprophytes ou les colonisateurs secondaires causent des dommages supplémentaires à l'hôte, ce qui entraîne une maladie invisible (Egan and Gardiner, 2016).

**Figure 4.** Anatomie de l'huître creuse (modifié d'après Normand, 2009) ©Julien Normand.

**Figure 5.** Schéma de la structure des feuillets branchiaux des Lamellibranches (Idewood, 1903). (A) Portion d'une branchie avec feuillet ascendant et descendant, interne et externe (en forme de W). (B) Portion de branchie montrant le dessous d'une lamelle branchiale. (C, D et E) Portions antérieure, moyenne et postérieure du milieu d'une branchie, avec lamelles branchiales en partie supérieure. (F) Schéma du courant d'eau induit à travers une branchie de Lamellibranche, avec des jonctions interfilamentaires visibles.

**Figure 6.** Schéma des possibilités de sélection des particules chez les bivalves lamellibranches. Les flèches indiquent le mouvement général de la matière particulaire depuis le milieu extérieur à travers les organes d'alimentation et de digestion. (1) Capture préférentielle par les cténidies entraînant la non-rétention de certaines particules; (2) sélection et transport différentiel par les cténidies entraînant le rejet de certaines particules sous forme de pseudo-fèces; (3) sélection par les palpes labiaux entraînant l'ingestion préférentielle de certaines particules et la production de pseudo-fèces; (4) sélection dans l'estomac et transport préférentiel de certaines particules vers les diverticules digestifs. Le matériel non absorbé est expulsé sous forme de fèces (modifié d'après Ward and Shumway, 2004).

**Figure 7.** Cycle de vie de l'huître creuse *Crassostrea gigas* (Vogeler et al., 2016).

**Figure 8.** Cartographie de la répartition de l'huître creuse *Crassostrea gigas* (d'après Molnar et al., 2008, modifié d'après la Banque d'images SMART Servier Medical ART) ©SERVIER.

**Figure 9.** Variation du microbiote de l'huître en fonction des tissus. Représentation anatomique des différentes localisations corporelles de l'huître et des microbiotes qui leur sont typiquement associés. Les facteurs spécifiques aux tissus qui influencent la composition et l'activité du microbiote transitoire et résident sont également notés (Yeh et al., 2020).

**Figure 10.** Evolution du microbiote au cours du développement de l'huître (modifié d'après Yeh et al., 2020).

**Figure 11.** Organisation du génome viral d'OsHV-1 (modifié d'après Martenot, 2013).

**Figure 12.** Répartition mondiale d'OsHV-1 et ses variants (d'après Segarra, 2014, modifié d'après la Banque d'images SMART) ©SERVIER.

**Figure 13.** Structure d'une particule virale de type herpesvirus (modifié d'après la Banque d'images SMART) ©SERVIER.

**Figure 14.** Mécanismes mis en place par HSV-1 pour son introduction dans la cellule hôte et la fusion des membranes (Vollmer and Grünewald, 2020).

**Figure 15.** Schéma d'une infection virale et des processus mis en place pour la réplication des particules pathogènes au sein de la cellule hôte (Jouaux et al., 2013).

**Figure 16.** Réponse immunitaire cellulaire de l'huître (Schmitt et al., 2012c). Les agents pathogènes envahissants contournent la couche épithéliale, qui produit des peptides antimicrobiens (AMP; point rouge), puis les hémocytes circulants dans l'hémolymphe les englobent. Ils sont alors exposés à des espèces réactives de l'oxygène (ROS), produites soit par la NADPH oxydase (point vert), soit par les mitochondries, et à des protéines antimicrobiennes telles que le lysozyme et les AMP (King et al., 2019b).

**Figure 17.** Réponses antivirales chez l'huître creuse déduites à partir de séquences identifiées dans le génome de *C. gigas* et des systèmes antiviraux connus des insectes et des vertébrés. TIR, Toll/IL1 receptor; Ig, immunoglobulin; DD, death domain; LRR, leucine rich repeat; TM, transmembrane; PKc, protein kinase c; RHD, rel homology domain; IPT, immunoglobulin-like fold; RING, RING-finger (really interesting new gene) domain; zf-TRAF, TRAF type zinc finger; MAT, meprin and TRAF-C homology domain; UBL-TBK1-like, ubiquitin-like domain of human Tbk1 and similar proteins (Green et al., 2015).

**Figure 18.** Schéma des étapes du processus de la maladie polymicrobienne dans le cas du POMS (syndrome de mortalité de l'huître du Pacifique) décrit dans de Lorgeril et al., 2018 (d'après la Banque d'images SMART ©SERVIER, le site d'icônes ©FlatIcon ©Dimitry Miroliubov) ©Elyne Dugény.

**Figure 19.** Proposition de schéma de l'« interactome » concernant les maladies de l'huître. Le plus grand cercle (4) représente les événements environnementaux à grande échelle, qui influencent les paramètres abiotiques (3), ce qui entraîne un effet cascade qui aboutit à influencer les communautés microbiennes et les agents pathogènes (2) qui ensuite peuvent agir sur l'hôte (1) (King et al., 2019b).

**Figure 20.** Modélisation de la distribution spatiale de la date de ponte le long des côtes européennes lors d'une année froide en 1986 et d'une année chaude 2003. Aucune ponte n'a lieu dans les zones blanches (Thomas et al., 2016).

**Figure 21.** Schéma regroupant les facteurs et processus environnementaux dans l'environnement marin qui affectent la dynamique des virus et les interactions virus-hôte. (a) Synthèse des facteurs environnementaux pouvant entraîner l'élimination ou l'inactivation des particules virales, réduisant ainsi les chances de réussite de la rencontre avec l'hôte. (b) Aperçu des aspects qui peuvent influencer le pool viral en modifiant la dynamique de l'hôte et en diminuant la susceptibilité à l'infection ou en modifiant les caractéristiques de la prolifération virale. HNF désigne les nanoflagellés hétérotrophes (Mojica and Brussaard, 2014).

**Figure 22.** Schéma du cycle de vie de l'ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) in *Crassostrea gigas* au voisinage d'une mytiliculture (Ben-Horin et al., 2015).

**Figure 23.** Diversité des macroalgues. (A) Arbre phylogénétique simplifié, positionnant les groupes polyphylétiques des macroalgues au sein de différentes lignées. (B, C et D) Illustrations d'exemples de spécimens appartenant aux groupes des macroalgues vertes, rouges et brunes (modifié d'après (Stiger-Pouvreau and Zubia, 2020).

**Figure 24.** Schéma de la zonation littorale et de l'étagement des macroalgues brunes d'un mode abrité en milieu rocheux de Manche et d'Atlantique. ©Élyne Dugény

**Figure 25.** Schéma de l'holobionte macroalgue et des facteurs pouvant influencer les colonisations bactériennes à la surface du thalle (Egan et al., 2013a).

**Figure 26.** Schéma récapitulatif des rôles que peuvent avoir les communautés bactériennes épiphytiques vis-à-vis de leur macroalgue hôte (Egan et al., 2017).

**Figure 27.** Distribution mondiale des marées vertes au cours des quatre dernières décennies représentant les sites les plus fréquemment impactés. Le point rouge marque la plus grande marée verte du monde, qui s'est produite dans la mer Jaune, en Chine, en 2008 et 2009 (d'après Ye et al., 2011, figure modifiée d'après la Banque d'images SMART) ©SERVIER.

## Chapitre 1

---

**Figure 1.** Experimental design (A) and sampling schedule (B). Only one replicate out of three is represented. Arrows indicate direction of water flow. Each experimental unit consists of a header tank containing seaweed (or control) flowing to a holding tank containing oysters.

**Figure 2.** Survival of oysters exposed to OsHV-1 after acclimation with seaweed (A) and prevalence of OsHV-1 in oysters (B). The thin lines in graph A represent the survival curves for each individual tank while the thick line is the average by condition. The y axis of graph B is the number of oysters positive to OsHV-1 out of 5 tested for each tank and condition 72 hpi. There are three bars per condition, each corresponding to one tank (replicate). The dark part of the bars represents positive individuals while the light part represents individuals for whom the virus was not detected (negative). Star indicates significant differences.

**Figure 3.** Bacterial microbiota in oysters during acclimation to algae and virus exposure. Multidimensional Scaling (MDS) plot of the Bray-Curtis dissimilarity matrix of the microbiota (A). Each point of the triangles corresponds to one of the 3 replicates at one time. Dots represent distinct pools of 5 oysters. Colors correspond to algal species and numbers refer to days. Heatmaps of the bacterial taxa that were modified in oysters during acclimation to algae and virus exposure (B-D). Significant changes in taxa were evaluated by DEseq during acclimation (algae vs control at 14 d) and virus exposure (17 d vs 14 d within algae). The numbers in red indicate taxa whose relative abundance was modified in all conditions during virus exposure. OTUs are classified according the value of DEseq fold change (higher to lower) and clustered in four groups. Groups I and II include taxa whose relative abundances increased or decreased respectively during acclimation to algae whereas group III and IV include those that increased or decreased, respectively, during virus exposure. Analyses were performed at the genera level. The algae column corresponds to relative abundance of the bacterial taxa in algae at the beginning of the experiment (0 d) of that were modified in oysters. The intensity level of the blue represents the relative abundance of bacterial taxa. At each time, the analysis was performed on 3 distinct pools of 5 oysters or 3 algae samples.

**Figure 4.** Transcriptomic response of oysters. Venn diagrams of all DEGs (A) and DEGs related to defense (B) relatives to control oysters. (C) Heatmaps of the enriched GO categories for DEGs related to defenses ( $\log_2$  Foldchange,  $p\text{-adj} < 0.05$ ). The intensity of the enrichment is expressed as the ratio between the number of genes that were up (yellow heat) or down (blue heat) regulated compared with the total number of genes in the category. If the intensity was equal to zero (black heat), then the enrichment was not significant.

---

**Figure S1.** OsHV-1 DNA detection in seawater 72 hpi at the inlet and outlet of tanks containing the oysters. Data are means  $\pm$  SD,  $n=3$  replicate tanks. General linear mixed model (GLMM, split-split-plot) was used to determine the effect of condition, level and sampling time (repeated measurement) on the virus concentration in the seawater at the outlet of the tanks containing the seaweed and containing the oysters with tank as random factor. The normality of residuals and homogeneity of variance was graphically checked, and data were  $\log_{10}$  transformed to meet the normality assumption where necessary.

**Figure S2.** Richness rarefaction curves of the sub-sampled 16S rDNA genes dataset (14000 reads per sample) for oysters showing the number of OTUs as a function of the number of sequences analyzed (sample size). Letters correspond to the different conditions (Brown algae B, Green algae G, Red algae R and Control C) and numbers correspond to days (5, 12 and 14 for acclimation period and 17 for 72hpi) during the kinetics of the experiment. Triplicate results are shown for each time point.

**Figure S3.** Relative abundance of bacteria (class level) in oysters acclimated with brown algae (A), red algae (B), green algae (C) and controls (D), and in algae (data are averages among times during acclimation). X-axis corresponds to the sampling times during the acclimation phase and the virus exposure.

**Figure S4.** Temporal dynamics of alpha diversity in algae during acclimation considering different diversity indices: Shannon index (A), Pielou's evenness (B) and Simpson index (C). The data are means  $\pm$  SD (n=3).

**Figure S5.** Temporal dynamics of alpha diversity in oysters during the acclimation period and virus exposure, considering different diversity indices: Shannon index (A), Pielou's evenness (B) and Simpson index (C). The data are means  $\pm$  SD (n=3 pools of 5 oysters).

**Figure S6.** Hierarchical treemaps of biological process enriched in oysters acclimated to green, brown and red algae. The first four enriched process were for (A) green algae: regulation of immune response, defense response, positive regulation of catalytic activity and neurotransmitter transport, (B) brown algae: RNA secondary structure unwinding (containing defense response), positive regulation of DNA-templated transcription, protein ubiquitination and amino acid transmembrane transport and (C) red algae: defense response, protein ubiquitination, negative regulation of endopeptidase activity and NLS-bearing protein import into nucleus.

**Figure S7.** Scatterplots of molecular functions of DEGs related to defense response in oysters after 14 d of acclimation, highlighting binding functions. Gene ontology terms are indicated in the table.

**Figure S8.** Total body mass (A), ingestion rates (B) and lipid reserves (TAG/ST) of oysters (C). Principal component analysis of fatty acids in macroalgae and oysters at the end of the acclimation period (14d, D). Symbol color correspond to that of macroalgae. Letters indicate statistically significant differences. Data are means  $\pm$  SD, n=3 replicate tanks.

**Figure S9.** Relative quantification of total bacteria in oysters maintained in different conditions with Brown, Green or Red seaweeds or without seaweed (controls). Abundances were measured by qPCR. Dots represents distinct pools of 5 oysters. The data are means  $\pm$  SD (n=3 pools of 5 oysters).

**Figure S10.** Phytoplankton concentrations ( $\mu\text{m}^3 \mu\text{l}^{-1}$  in levels 2 and 3) and ingestion rates. Average concentration of microalgae measured in the inlet of test tanks and the outlet of recipient tanks for Control (A), Brown algae (B), Red algae (C) and Green algae (D) during the experiment. Ingestion rate mean per individual in each condition (E). Data are means  $\pm$  SD, n=3 replicate tanks.

## Chapitre 2

---

**Figure 1.** Experimental design. Arrows indicate direction of water flow. Each experimental unit consists in a test tank containing algae or control, flowing to a tank containing oysters. The tank containing donor oysters was placed only after two weeks of acclimation, for the infection phase.

**Figure 2.** Survival of oysters exposed to OsHV-1 after acclimation with algae from different origin for  $S_{F15}$  (A) and NSI (B). Data are means  $\pm$  SD, n=3 replicate tanks.

**Figure 3.** OsHV-1 DNA detection in seawater 72 hpi at the inlet and outlet of tanks containing the oysters. Data are means  $\pm$  SD, n=3 replicate tanks. General linear mixed model (GLMM, split-split-plot) was used to determine the effect of condition, level and sampling time (repeated measurement) on the virus concentration in the seawater at the outlet of the tanks containing the green algae and containing the oysters with tank as random factor. The normality of residuals and homogeneity of variance was graphically checked, and data were log<sub>10</sub> transformed to meet the normality assumption where necessary.

**Figure 4.** Bacterial microbiota in oysters (NSI +  $S_{F15}$ ) during acclimation to algae and virus exposure. Multidimensional Scaling (MDS) based on Bray-Curtis dissimilarity matrix of bacterial communities composition structure in algae (initial and 14 d) and in oysters at 14 days for all conditions and 17 days for the condition with algae from Brest (A); and in oysters (14 d and 17 d) and algae (initial and 14 d) for the condition with algae from Brest in 2018 and 2020 (B). Each point of the triangles corresponds to one of the 3 replicates at one time. Dots represent distinct pools of 5 oysters, NSI (2018 brown and 2020 black) and SF15 (2020 grey). Colors correspond to algal batches origin or the condition for oysters.

**Figure 5.** Heatmaps of the bacterial OTUs (genera level) significantly modified in oysters after the acclimation to green algae from the Brest site in 2018 and in 2020 (A). Significant changes in taxa were evaluated by DESeq after 14 days of acclimation (algae vs control for each year). OTUs are classified according to the value of DESeq fold change (higher to lower). Venn diagram of specific and common significantly over and under-represented OTUs in NSI oysters after acclimatation with green algae from Brest compared to controls in 2018 and 2020 (B).

**Figure 6.** Heatmaps of the bacterial OTUs (genera level) significantly modified in oysters after the acclimation to green algae from different sites in 2020 (A). Significant changes in taxa were evaluated by DESeq after 14 days of acclimation (algae vs control). OTUs are classified according to a clustering (HLC tree) based on the values of DESeq fold change. Blue arrows indicate OTUs with significant differential over and under-representation, specific for the condition with algae from the EC site (Morlaix). Green arrows highlight the 23 OTUs significantly over-represented in AC conditions. Venn diagram of specific and common significantly over and under-represented OTUs in NSI oysters after acclimatation with green algae from different geographical locations compared to controls in 2020 (B).

**Figure 7.** Energetic response in NSI at 14 d of acclimation with green algae. Lipid reserves (TAG/ST) (A) and ingestion rates of oysters (B). Colors correspond to green algae batches origin. Data are means  $\pm$  SD, n=3 replicate tanks on the acclimation period.

---

**Figure S1.** Survival of oysters exposed to OsHV-1 after acclimation with green algae from the English Channel, for  $S_{F15}$  (A) and NSI (B). Control data are means  $\pm$  SD, n=3 replicate tanks and each replicate tank of Morlaix is shown.

**Figure S2.** Richness rarefaction curves of the sub-sampled 16S rDNA genes dataset (~40000 reads per sample) showing the number of OTUs as a function of the number of sequences analyzed (sample size) for oysters (NSI and  $S_{F15}$  families) exposed to green algae at day 14 and day 17 for condition with algae from Brest. Abbreviations are made for the different conditions where triplicates results are shown for each sampling time (C: Control, Morl: Morlaix, Conc: Concarneau, Morb: Morbihan, 14: day 14, 17: day 17).

**Figure S3.** Relative abundance of bacteria (class level) in oysters acclimated with green algae from different locations and controls,  $S_{F15}$  (A), NSI (B), and in green algae (C) after 14 days of acclimation.

**Figure S4.** Alpha diversity in oysters NSI (A),  $S_{F15}$  (B) and in algae (C) on the 14th day of acclimation. The data are means  $\pm$  SD (n=3).

## Discussion générale

---

**Figure 1.** Schéma hypothétique de la dysbiose induite par des algues vertes chez des huîtres *C. gigas*, résultant en des mortalités aggravées en contexte de maladie infectieuse induite par l'ostreid herpesvirus OsHV-1 et le POMS engendré (d'après la Banque d'images SMART ©SERVIER et le site d'icônes ©Flaticon ©Dimitry Miroliubov) ©Élyne Dugény.

**Figure 2.** (A) Acclimatation en milieu contrôlé de naissains d'huîtres creuses âgées de 4 mois à des communautés d'algues vertes prélevées en Rade de Brest à l'Anse du Roz (48°19'22.2"N 4°19'09.0"W) dans une salle expérimentale du site d'Argenton (Ifremer). (B) Déploiement de poches ostréicoles contenant les naissains d'huîtres, conditionnés en milieu contrôlé, sur site d'étude en Rade de Brest à la pointe du Château de Logonna-Daoulas (48°20'06.2"N 4°19'08.2"W). ©Élyne Dugény

**Figure 3.** Survie des huîtres exposées à OsHV-1 après deux semaines d'acclimatation avec des algues vertes de la rade de Brest (A) déployées sur le terrain et (B) en milieu contrôlé pour les expériences 2018 (Chapitre 1) et 2020 (Chapitre 2). Les données sont moyennées sur n=3 bassins répliqués.

# Crédit photographique

---

Illustrations des titres des parties de ce manuscrit : ©Élyne Dugény



# Liste des tableaux

---

## Chapitre 1

---

**Table 1.** Cox regression model for survival data of oysters acclimated to algae and exposed to OsHV-1. Control oysters with no algae were used as reference.

**Table 2.** Levels of OsHV-1 DNA (cp mg<sup>-1</sup>) in oysters acclimated to seaweed and exposed to the virus 72 hpi. Data are means ± SD (n=3 tanks). Summary of ANOVA performed on log-transformed data. Means sharing a letter are not significantly different (Tukey-adjusted comparisons). Abbreviations: SE, standard error; ddf, denominator degree of freedom.

---

**Table S1.** Logistic regression model for OsHV-1 prevalence data in oysters.

**Table S2.** Two-way PERMANOVAs testing the effect of condition, time and their mutual interaction on bacterial microbiota of algae and oysters.

**Table S3.** Two-way PERMANOVA pairwise comparisons between conditions on bacterial microbiota of oysters acclimated for 12-14 d and exposed to OsHV-1 (17 d).

## Chapitre 2

---

**Table 1.** Cox regression model for survival data of the two oyster lines acclimated to green algae during 14 days and exposed to OsHV-1. Control oysters with no green algae were used as reference.

**Table 2.** Two-way PERMANOVAs testing the effect of conditions (acclimation), line ( $S_{F15}$  or NSI) on bacterial microbiota of oysters at 14 days and infected oysters with green algae from Brest at 17 days (2020). Two-way PERMANOVAs testing the effect of conditions and year (2018 vs 2020) on bacterial microbiota of control and oysters acclimated to green algae from Brest.

---

**Table S1.** Two-way PERMANOVAs testing the effect of conditions on bacterial microbiota of oysters (lines gathered by condition) at 14 days and 17 days for the condition with green algae from Brest.

**Table S2.** Kruskal-Wallis rank sum test followed by a post-hoc test (Dunn). Values presented are P-values from comparisons between conditions on alpha diversity indices of oysters  $S_{F15}$  acclimated for 14 d and for oysters exposed to OsHV-1 after an acclimation with green algae from Brest at 17 d.

**Table S3.** Kruskal-Wallis rank sum test followed by a post-hoc test (Dunn). Values presented are P-values from comparisons between conditions on alpha diversity indices of oysters NSI acclimated for 14 d and for oysters exposed to OsHV-1 after an acclimation with green algae from Brest at 17 d.

**Table S4.** Kruskal-Wallis comparisons between conditions on alpha diversity indices of algae after 14 days of experiment.

# Liste des abréviations

---

<b>AC</b> Atlantic Coast	<b>ORF</b> Open Reading Frame
<b>ADN</b> Acide DésoxyriboNucléique	<b>OsHV-1</b> Ostreid Herpes Virus (type 1)
<b>AKP</b> Anna Karenina Principle	<b>OTU</b> Operational Taxonomic Unit
<b>AMP</b> Anti Microbial Peptid	<b>PAM</b> Peptide antimicrobien
<b>ANOVA</b> ANalyses Of VAriance	<b>PAMP</b> Pathogen-Associated Molecular Pattern
<b>ARN</b> Acide RiboNucléique	<b>PCoA</b> Principal Coordinate Analysis
<b>BMME</b> Basse Mer de Mortes Eaux	<b>PCR</b> Polymerase Chain Reaction
<b>CEVA</b> Centre d'Étude et de Valorisation des Algues	<b>PERMANOVA</b> PERMutational multivariate ANalysis Of VAriance
<b>DAMP</b> Damage-Associated Molecular Pattern	<b>POMS</b> Pacific Oyster Mortality Syndrome
<b>DEG</b> Differentially Expressed Gene	<b>RLR</b> Retinoic acid-Inducible gene-like Receptors
<b>DNA</b> DesoxyriboNucleic Acid	<b>RNA</b> RiboNucleic Acid
<b>EC</b> English Channel	<b>RNS</b> Reactive Nitrogen Species
<b>ERA</b> Espèce Réactive de l'Azote	<b>ROS</b> Reactive Oxygen Species
<b>ERO</b> Espèce Réactive de l'Oxygène	<b>SCD</b> Single Cell Detritus
<b>FAO</b> Food and Agriculture Organisation	<b>S<sub>F15</sub></b> Susceptible Family 15 (oysters)
<b>HMVE</b> Haute Mer de Vives Eaux	<b>SPF</b> Source Pathogen Free
<b>HsV-1</b> Herpes Virus (Herpes simplex 1)	<b>ST</b> Sterol
<b>ISG</b> Interferon-Stimulated Genes	<b>TAG</b> Triacylglycerol
<b>JOD</b> Juvenile Oyster Disease	<b>TLR</b> Toll like Receptors
<b>MDS</b> MultiDimensional Scaling	<b>UV</b> UltraViolets
<b>NSI</b> Naissain Standardisé Ifremer	



# Introduction générale

---



Dans les écosystèmes, les interactions hôtes-pathogènes résident au cœur de l'évolution en impliquant de fortes pressions de sélection sur les deux protagonistes. L'un comme l'autre met en place des stratégies retenues par la sélection naturelle pour contrer les mécanismes utilisés dans cette relation en perpétuelle dynamique coévolutive. En ajout à cela, chaque être vivant peut être considéré comme un holobionte (Meyer-Abich, 1943; Margulis and Fester, 1991), une unité fonctionnelle sur laquelle agit la sélection naturelle et qui résulte d'un assemblage d'organismes coexistant en permanence et évoluant simultanément (Guerrero et al., 2013). Un hôte et son microbiote symbiotique associé font partie de ce complexe d'organismes (Margulis, 1993; Knowlton and Rohwer, 2003; Theis et al., 2016). Ainsi, au cœur même de l'holobionte, beaucoup d'interactions peuvent influencer la réponse à la pathogénicité de l'hôte. La composition des communautés microbiotiques peut même être utilisée pour prédire la résistance ou la sensibilité à certaines maladies et ces caractéristiques pourraient permettre de prévoir les mortalités (Clerissi et al., 2020). Cette idée pousse la réflexion au-delà des pathogènes connus et remet en question la vision d'un seul pathogène responsable d'une maladie. Elle intègre donc, dans ce contexte d'interactions entre communautés microbiennes, le concept de pathobiome, prenant en compte l'ensemble des facteurs qui vont influencer les interactions Hôte-Pathogènes et l'établissement d'une maladie. Enfin, la composante de l'environnement vient ajouter encore de la complexité dans ces relations. Les interactions Hôte-Pathogène-Environnement régissent le risque de maladie dans les écosystèmes (Burge et al., 2014) et constituent un véritable « interactome » qui influence la dynamique épidémiologique (Arthur et al., 2017; King et al., 2019b).

En milieu marin, les maladies sont sources de modifications importantes au sein des communautés, en se propageant très rapidement (Harvell et al., 2004). Ces milieux connaissent déjà une augmentation de la fréquence des maladies. Cependant les pressions

environnementales croissantes en milieux marins font craindre un accroissement de la prévalence et de la gravité des infections affectant les organismes (Harvell et al., 2002, Harvell et al., 2004; Lafferty et al., 2004; Egan and Gardiner, 2016). L'intensification et la mondialisation de l'aquaculture rendent l'impact des épizooties considérable sur de nombreuses industries aquacoles et ces événements devraient augmenter avec les changements globaux et l'augmentation des pressions anthropiques. L'enjeu est de taille, car les ressources marines consistent, pour des centaines de millions de personnes, en l'assurance d'accès à la nourriture, d'emplois, de solutions médicales et d'une nutrition valable (FAO, 2020).

Dans le milieu de la conchyliculture, les activités aquacoles de tous types sont impactées par les maladies infectieuses qui ont donc de fortes répercussions sur l'économie (Lafferty et al., 2015). Dans ce contexte, l'ostréiculture est une activité particulièrement vulnérable et a été rythmée par les épizooties successives (MacKenzie and Clyde, 1996; Gouletquer and Heral, 1997; Nell, 2001; Buestel et al., 2009; Troost, 2010). La principale espèce d'huître exploitée mondialement n'échappe pas à l'émergence de maladies. *Crassostrea gigas*, l'huître creuse du Pacifique, est depuis une vingtaine d'années en proie à des mortalités récurrentes, devenues annuelles (Peeler et al., 2012; Roque et al., 2012; Jenkins et al. 2013; Paul-Pont et al., 2013; Clegg et al., 2014; Keeling et al. 2014; Paul-Pont et al., 2014; Pernet et al., 2016). Cette espèce est confrontée au syndrome de mortalité massive des huîtres du Pacifique<sup>1</sup>, une maladie polymicrobienne débutant par l'infection virale induite par le génotype  $\mu$ Var de l'ostreid herpesvirus 1, OsHV-1 (Segarra et al., 2010). Le virus touche en partie les cellules

---

<sup>1</sup> "Pacific Oyster Mortality Syndrom" (POMS)

immunitaires de l'huître, causant donc son immunodépression et ouvrant la voie à une infection bactérienne secondaire conduisant à la mort par septicémie (de Lorgeril et al., 2018).

Plusieurs facteurs expliquent l'origine des forts épisodes de mortalité induits par ces maladies et agissent à l'échelle du pathogène, de l'hôte, de l'environnement ou des trois à la fois. Il est donc primordial d'identifier les facteurs de risques environnementaux qui favorisent l'émergence des épizooties (Groner et al., 2016; Pernet et al., 2016). De nombreuses perturbations peuvent déplacer l'équilibre hôte-pathogène-environnement, modifiant ainsi la réponse de l'hôte ou de l'agent pathogène (Burge et al., 2014). Parmi elles, la présence de pathogènes dans le milieu, la maturité sexuelle de l'huître, sa prédisposition génétique à la sensibilité aux maladies, ou encore des conditions environnementales stressantes, comme des changements de paramètres de l'eau de mer (température, salinité, pH) et des contraintes météorologiques (régime des précipitations, exposition aux tempêtes et aux cyclones) sont autant de facteurs qui peuvent déplacer cet équilibre. Actuellement, ce sont essentiellement les paramètres abiotiques qui sont connus comme influençant le risque de maladie. À l'inverse, les facteurs biotiques sont beaucoup moins étudiés (Pernet et al., 2016a).

Dans ce contexte, ces travaux de thèse ont porté sur l'influence de communautés environnantes sur la sensibilité des huîtres creuses *C. gigas* à l'infection virale causée par OsHV-1. L'objectif était de mieux connaître les interactions fines entre des communautés de macroalgues et leurs conséquences sur l'huître, en contexte infectieux. Les expériences conduites permettent ainsi d'explorer les effets de facteurs biotiques sur le risque de maladie dans les écosystèmes marins et de contribuer à apporter des éléments de connaissances dans cette approche encore peu explorée. En outre, ce travail offre une vision plus holistique d'une épizootie marine et apporte une perspective qui considère l'holobionte, tout en soulignant

l'importance de prendre en compte les interactions macro et microbiotiques, pour la compréhension de la maladie. Ce travail s'implémente dans une approche « EcoHealth » et « One Health », ayant pour but de comprendre le lien entre la santé de l'Homme, l'animal et l'environnement par une approche intégrée, systémique et unifiée (Zinsstag, 2013; Harrison et al., 2019). Dans cette thèse, le même genre de démarche a été employé pour comprendre le lien entre la santé d'un animal suspensivore fixé et l'état de son environnement. Enfin, les résultats obtenus pourraient inspirer la mise en place de mesures de gestions des exploitations ostréicoles dans la prévention des mortalités d'huîtres creuses et potentiellement la mise en œuvre de moyens pour y remédier.





# État de l'art

---



## I. Définitions et concepts en Écologie

### I.1. Les écosystèmes

Le vivant et toute son organisation dans la nature est régi par des interactions de tous types dans les divers milieux. Ce sont ces interactions, établies entre les différents êtres-vivants d'une part, et avec leur environnement physique d'autre part, qui déterminent la structure et le fonctionnement des écosystèmes. Le terme d'« écosystème » aurait été employé pour la première fois en 1935 par Arthur George Tansley pour décrire un ensemble formé par le complexe d'une communauté d'organismes et le complexe des facteurs physiques de l'environnement (Tansley, 1935). En somme, la biocénose (*i.e.* l'ensemble des facteurs biotiques, les espèces vivantes, leur organisation et leurs interactions dans un espace donné) et le biotope (*i.e.* l'ensemble des facteurs abiotiques, les paramètres physico-chimiques) caractérisent un écosystème. Cette approche holistique permet de décrire ces systèmes interactifs et dynamiques, qui constituent les unités de base de l'appréhension de la nature et permettent son étude pour comprendre comment elle s'organise et évolue.

### I.2. La biocénose des écosystèmes

L'apparition du terme de « biocénose » remonte à 1877 et a été introduit par Karl August Möbius, pour décrire les nombreux assemblages d'organismes associés aux bancs d'huîtres dans les milieux marins côtiers (Möbius, 1877). Il la définit comme un groupement d'êtres-vivants liés par une dépendance réciproque et dont la composition, le nombre d'espèces et d'individus, reflètent les propriétés du milieu de vie et l'état de l'écosystème. Cette appréhension globale des phénomènes de groupe s'inscrit dans le courant de pensée de Charles Darwin, qui développait ses théories sur la lutte pour la survie des populations naturelles (Darwin, 1859). Les biocénoses représentent des unités structurées à l'échelle des

populations, regroupant des individus cohabitant sur un même espace, une même période et soumis à la sélection naturelle.

Il existe deux types de réponses de la part des êtres-vivants aux variations des paramètres environnementaux pour assurer leur survie. En Ecologie, on distingue l'acclimatation, une réponse ponctuelle et réversible d'un individu sur une courte période, faisant intervenir une réaction physiologique sans modification du génotype, que l'on oppose à l'adaptation, un mécanisme sur le plus long terme et impliquant des modifications au niveau du génome qui seront sélectionnées pour la survie et contribueraient au succès reproducteur de l'individu (Bock, 1980). Moteur de l'évolution, les adaptations peuvent persister et se transmettre dans une population dès lors que la sélection naturelle conserve ces nouveaux traits favorisant l'organisme, qu'ils soient physiologiques, morphologiques ou comportementaux.

Cette notion d'adaptation prend ce sens lorsque l'on emploie des considérations écologiques et évolutionnistes. Cependant, elle ne prend pas la même signification dans toutes les disciplines (Simonet and Duchemin, 2010). Dans tous les cas, l'environnement est fortement lié au concept d'adaptation qui est une propriété des caractéristiques phénotypiques des organismes par rapport aux exigences de sélection (Bock, 1980). La plasticité phénotypique peut permettre à un organisme de s'« adapter » à certaines conditions du milieu en le faisant exprimer des traits spécifiques. Par exemple en bactériologie, on parle d'adaptation bactérienne pour les bactéries qui vont modifier leur mode de vie et leur structure en réponse à un changement dans leur environnement. Chez les bactéries, un changement physiologique peut s'opérer par l'acquisition d'un seul gène, produisant une différenciation écologique sans isolement génétique. Certaines altérations induites sont réversibles, tandis que d'autres sont maintenues et se transmettent aux générations suivantes (Retchless and Lawrence, 2012).

Ainsi, par leurs capacités d'évolution et d'adaptation face aux fluctuations abiotiques perpétuelles, les biocénoses garantissent la résilience des écosystèmes en constant changement et tendent à les maintenir en état d'équilibre dynamique, dont l'optimal théorique est appelé climax (Clements, 1936). Cependant, le terme de résilience comporte lui aussi plusieurs sens et la signification initialement proposée par Holling en 1973 a été maintes fois réemployée et quelque peu déformée (Angeler and Allen, 2016; Philippot et al., 2021). La résilience dite « ecological resilience » implique une certaine plasticité et un retour à un état stable après une perturbation, contrairement à l'« engineering resilience » qui suggère une résistance puis un retour à l'état d'origine, avant la perturbation (Holling, 1996). La plupart des études portant sur des écosystèmes microbiens se sont plutôt intéressées au concept de l'« engineering resilience » (Griffiths and Philippot, 2013). Avec différentes échelles temporelles et spatiales, parfois ces deux concepts peuvent se confondre (Mori, 2016; Oliver et al., 2015).

Comprendre l'organisation des écosystèmes et leur autorégulation est toujours un défi en écologie (Lee et al., 2019; Eisenhauer et al., 2015), car la complexité de cette organisation peut éclipser les contributions relatives des facteurs biotiques et abiotiques qui régulent la diversité biologique (Weiher and Keddy, 1995; Hanson et al., 2012; Loreau et al., 2001; Lamb et al., 2011).

### 1.3. La biodiversité dans les écosystèmes

De tels systèmes sont en effet constitués d'une grande variabilité d'organismes vivants. Ce que l'on appelle la diversité du vivant réfère à la richesse écosystémique des espèces, vivantes comme disparues, mais aussi à la variabilité génétique au sein des populations d'une même espèce, ainsi qu'à la diversité des fonctions écologiques qu'elles assument. C'est plus

récemment qu'est apparu le terme de biodiversité, fondé sur la diversité des formes de vies des espèces présentes dans un milieu donné et évoluant dans le temps (DeLong, 1996). Apparaissant au départ sous le terme anglais de « biological diversity » dans « *Different kind of country* », écrit en 1968 par Raymond F. Dasmann et employée dans deux travaux de Thomas E. Lovejoy en 1980, l'expression se contracte en « biodiversity » en 1986, grâce à Walter G. Rosen lors du congrès *The National Forum on BioDiversity* de Washington, dont le compte-rendu, publié en 1988 par Edward O. Wilson, porte le titre de *BioDiversity*.

Ce concept est étroitement lié à l'histoire mondiale de la protection de la nature, la prise de conscience du monde vivant environnant et à l'évolution des idées apportées par les prémices de l'écologie, qui modifient la perception humaine du monde vivant. C'est en outre grâce à la publication de « *On the origin of species* » de Charles Darwin en 1859 qu'une avancée majeure dans la vision de l'humain sur la nature et sur lui-même s'établit, grâce à la venue d'une première théorie scientifique convaincante sur l'origine de la diversité du vivant (Darwin, 1859). Ce tournant dans l'histoire des sciences naturelles bouleverse les acquis de l'époque et repousse l'idée d'une nature figée et inaltérable.

La biodiversité est un moyen d'appréhender la qualité de certains milieux de vie, car la variabilité des organismes dans un espace témoigne du bon état de santé des écosystèmes (Loreau et al., 2001; Hooper et al., 2005). Le terme de « santé de l'écosystème » est axé sur le fonctionnement de l'ensemble des communautés qui le composent. Un écosystème sain est un écosystème durable qui a la capacité de maintenir sa structure et son organisation, sa fonction et sa productivité, dans le temps et face à un stress, ce qui le rend également résilient (Costanza and Mageau, 1999).

La biodiversité s'établit sur différents niveaux et à différentes échelles dans les écosystèmes. Elle comprend la variété des organismes vivants sur trois niveaux : les différences génétiques,

la diversité des espèces au sein des communautés et la variabilité des écosystèmes dans lesquels ils se trouvent. Elle s'inscrit au cœur des processus écologiques et évolutifs qui les maintiennent en état de fonctionnement, tout en les poussant constamment aux changements et aux adaptations (Noss and Cooperrider, 1994). La diversité génétique intraspécifique (*i.e.* au sein d'une même espèce) permet l'adaptation évolutive des individus aux modifications de leur environnement par la variabilité des gènes et constitue une composante clef de la biodiversité. Elle peut avoir des conséquences écologiques importantes au niveau d'une population, d'une communauté et de l'écosystème, et ces effets peuvent s'avérer d'une ampleur comparable à ceux de la diversité des espèces (Hughes et al., 2008). En effet on lui attribue la capacité de favoriser la résilience et la résistance (Hughes and Stachowicz, 2004; Noto and Gouhier, 2020; Reusch et al., 2005). La diversité interspécifique (*i.e.* entre différentes espèces) dénombre les différentes espèces vivantes et la variabilité entre êtres-vivants dans les écosystèmes. Toute deux, diversité intraspécifique génotypique et diversité interspécifique régissent la dynamique et la résilience écologique des communautés et ont d'importants effets sur la structure et la fonction (Kelvin Lee et al., 2016). Elles affectent la structure du réseau alimentaire, le rendant plus complexe ou moins connecté (Rudolf and Rasmussen, 2013) et favorisent une plus grande richesse spécifique des communautés (Crutsinger et al., 2006). Enfin, la diversité écosystémique correspond aux différents écosystèmes existant dans la biosphère, qui se rapporte à l'ensemble des êtres-vivants et leurs milieux de vie. Elle va ainsi fortement influencer diversité interspécifique et intraspécifique en conditionnant les paramètres d'un milieu qui contribueront à sélectionner certains traits. D'autre part, il existe également la diversité fonctionnelle, qui rassemble les caractéristiques fonctionnelles des organismes entre ces différents niveaux, sans être liée aux

espèces (Tilman, 2001), ainsi que la diversité des interactions au cœur de ces différents niveaux.

#### I.4. Les interactions biotiques

Au sein des écosystèmes, les organismes interagissent par le biais d'interactions biotiques, des processus impliquant des échanges et des relations de réciprocité entre deux ou plusieurs individus, soit d'une même population, soit entre différentes biocénoses. Ils exercent entre eux des relations de concurrence, de compétition, de prédation, ou encore des interactions plus étroites comme dans le cas de relations symbiotiques, à travers le parasitisme ou la coopération par des associations mutualistes. La symbiose définit une interaction intime et prolongée entre des individus de deux espèces différentes. Elle est obligatoire et s'oppose aux interactions libres de type proie-prédateur ou végétaux-herbivore, où chacune des deux composantes ne dépend pas nécessairement de l'autre pour sa survie, car elle n'est pas unique. Les associations parasites se produisent lorsqu'un symbiote vit au détriment de l'autre, et les mutualistes sont des situations où les deux espèces bénéficient de l'association (Thrall et al., 2007). Toutes ces interactions biotiques sont des facteurs importants de la structure et de la fonction des écosystèmes (Lamb et al., 2011; Van Der Heijden et al., 2008). Ces facteurs biotiques peuvent être modifiés dans l'environnement par les facteurs abiotiques et inversement, les espèces peuvent avoir un effet sur leur environnement. On distingue des interactions interspécifiques et intraspécifiques, qui peuvent être à court terme (comme la prédation) ou à plus long terme (parasitisme, symbiose), pouvant parfois mener à une coévolution entre deux espèces liées. Ainsi, ces interactions peuvent être néfastes ou bénéfiques pour les organismes.



Toutes interactions concernant des relations d'alimentation appartiennent à la structure des réseaux trophiques, qui se rapportent à la nutrition et qui constituent un ensemble de chaînes alimentaires permettant les transferts de biomasses et la circulation de l'énergie par échanges de flux d'éléments entre les êtres vivants (Cohen and Stephens, 1978). Dans les écosystèmes, ces réseaux trophiques ont une influence sur la quantité, la qualité, la stabilité et la diversité de la biomasse produite, jouant de ce fait un rôle très important dans la structuration, l'équilibre et la résilience des milieux.

Les interactions non-trophiques entre espèces (n'ayant pas de relation de type végétal-brouteur ou proie-prédateur) mais induisant la modification de l'habitat ou encore du comportement des individus, peuvent également être déterminantes dans la structure de la chaîne alimentaire (Borst et al., 2018). Selon cette idée, certaines espèces, par leur simple présence et activité dans un milieu, modifient significativement l'environnement, sans pour autant agir directement sur d'autres organismes. Ces organismes sont appelés des espèces ingénieuses de l'écosystème, terme employé pour décrire les espèces qui modulent la biodisponibilité des ressources pour les autres (Jones et al., 1994).

En outre, les relations durables et obligatoires pour l'un ou les deux organismes qui interagissent de manière interdépendante, déterminent également leurs conditions de vie dans un écosystème. C'est le cas, par exemple, des interactions de mutualisme, mutuellement bénéfiques, et de parasitisme, de nature antagoniste. Le mutualisme concerne des situations où les deux espèces bénéficient de l'association ; tandis que les associations parasitaires se produisent lorsqu'un organisme vit au détriment d'un hôte (Thrall et al, 2007). Symbiose mutualiste et symbiose parasitique sont des relations durables, directes et sont bien souvent le fruit d'une coévolution de deux protagonistes, grâce à leur influence réciproque (Thrall et al., 2007). Au-delà de la vaste diversité des situations, symbiose mutualiste et parasitisme

témoignent du caractère essentiel de l'interaction pour la survie d'au moins un des deux individus, et sont souvent à l'origine de l'émergence de propriétés nouvelles dans les systèmes. En réalité, dans la nature, aucun organisme ne vit seul et chaque être vivant est en permanence associé à de nombreux autres organismes.

#### *1.4.1) Symbiose mutualiste*

Spécifiquement, le cas de la symbiose mutualiste fait intervenir un bénéfice réciproque pour deux organismes dépendants l'un de l'autre. Les bénéfices sont souvent trophiques, car cette association peut permettre à deux individus ayant des modes de vie différents de mutualiser leurs activités pour garantir un apport de ressources à l'autre, par des capacités qu'il ne possède pas. Ainsi, ce type de symbiose évoque une relation obligatoire sans laquelle les deux organismes ne pourraient pas vivre de la même manière séparément.

La symbiose a joué un rôle fondamental en tant que mécanisme évolutif dans la constitution de la cellule eucaryote (Margulis et al., 2000; Margulis, et al., 2006). Parmi les nombreux exemples de symbioses existantes entre une multitude d'espèces, il y a en particulier celui qui concerne tout être vivant de la biosphère et renvoie au concept d'« holobionte » (Margulis and Fester, 1991; Meyer-Abich, 1943). Ce terme est un dérivé du holisme, une notion philosophique proposée par Aristote au IV<sup>e</sup> siècle avant J.C., qui stipule que les systèmes doivent être étudiés dans leur intégralité, par les interconnexions entre leurs différents composants, plutôt que sur les parties individuelles (Dittami et al., 2021). Si la théorie de l'endosymbiose est communément acceptée, depuis qu'elle a été proposée pour la première fois par Mereschkowsky (1905), puis développée par Wallin (1925), le terme d'holobionte a quant à lui davantage tardé à entrer dans le langage scientifique (Dittami et al., 2021). Il a été initialement introduit par Adolf Meyer-Abich en 1943, puis indépendamment par Lynn Margulis en 1991 (Baedke et al., 2020). En 1990, Lynn Margulis a suggéré que l'évolution se

fait principalement à travers des modifications induites par la symbiose, qui permettent la fusion d'organismes en une nouvelle forme unifiée, plus que par des changements mutationnels cumulés (Margulis and Fester, 1991; O'Malley, 2017). Par la suite, ce terme a évolué pour décrire un assemblage de plusieurs organismes associés qui coexistent, formant une entité complexe sur laquelle agit la sélection naturelle, comme sur une unité à part entière (Guerrero et al., 2013; Theis et al., 2016). Ainsi, un holobionte désigne un complexe de divers organismes, ou biontes, résultant de leur coexistence permanente et leurs interactions (Pita et al., 2018).. Il comprend l'hôte, son microbiote symbiotique associé, ainsi que toutes les autres composantes qui contribuent, d'une manière ou d'une autre, à la fonction de l'ensemble de l'organisme. D'autre part, la notion d'unité fonctionnelle et évolutive est au cœur de la notion d'holobionte (Margulis, 1993; Knowlton and Rohwer, 2003; Vandenkoornhuyse et al., 2015; Guerrero et al. , 2013) et si l'on considère l'ensemble des génomes de tous les biontes, on parle d'hologénome (Bordenstein and Theis, 2015; Theis et al., 2016).

Mais cette notion d'holobionte n'a pas toujours fait l'unanimité auprès de la communauté scientifique et beaucoup de controverses se sont établies entre les différents tenants de la définition et de l'emploi de ce terme. En effet, plusieurs auteurs ont remis en question ce concept qui selon eux, ne rend pas justice aux relations Hôte-Symbionte (Moran and Sloan, 2015). Certains contestent le concept d'une unité évolutive unique de sélection, fonctionnant comme un organisme individuel et affirment qu'un tel paradigme n'aide pas à étudier en toute précision les interactions entre hôte et leurs microorganismes résidents. Car en considérant l'holobionte comme seul niveau de sélection et des interactions coopératives, cela exclut, d'après eux, d'autres types d'interactions comme la compétition ou l'antagonisme parmi les communautés microbiotiques ainsi que les éventuels conflits entre l'hôte et ses

microbes associés (Douglas and Werren, 2016). Holobionte comme hologénome sont controversés encore aujourd'hui et nécessitent plus de connaissance des différents niveaux sur lesquels agit la sélection naturelle dans le contexte des interactions Hôte-Microbiome. Néanmoins, ce concept permet de remettre en perspective l'idée d'une symbiose binaire impliquant un seul partenaire microbien pour un seul hôte et étend la compréhension des relations symbiotiques à des complexes multi-partenaires (Egan et al., 2020).

Le terme « microbiome » a quant à lui été inventé par Lisansky (1988) et connaît depuis un intérêt certain qui lui a valu d'être de plus en plus étudié. La plupart des recherches portant sur le microbiome ont été réalisées sur l'humain et ont permis d'établir quelques corrélations entre sa composition spécifique et un certain nombre de troubles ou maladies (Abraham and Cho, 2009; Heijtz et al., 2011; Turnbaugh et al., 2006). Le microbiome peut aussi influencer le comportement animal ainsi que la sensibilité aux agents pathogènes (Hosokawa et al., 2008; Koch and Schmid-Hempel, 2011).

Les relations entre un hôte et son microbiote peuvent être modulées par des interactions trophiques, la nourriture d'un organisme influençant l'état de ses endosymbiontes (Miller et al., 2021). Hôte et symbionte microbienne sont donc intimement liés et les interactions hôte-microbiote-environnement sont vulnérables aux changements de l'écosystème. Toute variation dans l'une ou l'autre de ces composantes peut influencer la structure des communautés en déplaçant cet équilibre et en modifiant la réponse de l'hôte, de son microbiote ou de ces deux éléments. Bien que les microbes associés contribuent à l'homéostasie de l'holobionte, leur rôle dans ses capacités d'adaptation reste peu connu. Particulièrement, les effets potentiels des autres espèces animales ou végétales environnantes sur cet équilibre sont encore peu compris.

Récemment, l'intérêt pour les micro-organismes s'est étendu au microbiote des êtres vivants et à la manière dont il interagit avec eux, notamment dans la défense contre des pathogènes (Cory and Deschodt, 2017). Par ailleurs, les micro-organismes sont des acteurs importants dans les écosystèmes marins et forment souvent des associations étroites avec des organismes eucaryotes plus grands, notamment les macroalgues (Egan et al., 2017).

#### 1.4.2) Parasitisme

Le cas des relations de parasitismes est également complexe et fait intervenir des interactions très étroites et spécifiques entre un parasite et son hôte. Bien que les parasites agissent au détriment d'un organisme, ils façonnent la dynamique des populations d'hôtes, modifient la compétition interspécifique, influencent les flux d'énergie et semblent être des moteurs importants de la biodiversité et de la production en influençant une série de fonctions des écosystèmes (Hudson et al., 2006). Leur impact sur les aptitudes optimales de l'hôte résulte en des changements au niveau des interactions compétitives et trophiques entre les espèces, impliquant de profondes modifications sur la diversité spécifique, l'abondance d'espèces et les interactions établies entre elles, perturbant ainsi toute l'organisation de l'écosystème. Ce phénomène est d'autant plus vérifié lorsqu'ils influencent le comportement de l'hôte (Moore, 1984), lorsqu'ils atténuent l'activité des herbivores (Thaler et al., 1999) ou rendent les hôtes plus vulnérables aux prédateurs (Hudson et al., 1992; Packer et al., 2003; Hudson et al., 2006). La susceptibilité ou la réceptivité de l'hôte peut varier en fonction de l'évolution des paramètres biotiques et abiotiques dans l'écosystème. De même, l'infectivité d'un parasite (*i.e.* sa capacité à s'établir au sein de son hôte) va dépendre de nombreux paramètres environnementaux. L'invasion des organismes par d'autres organismes parasites ou pathogènes, qui définit le terme d'infection, sera donc régie par les conditions dans lesquelles se trouvent ces deux entités en interaction étroite, en plus des capacités de colonisation du

parasite et de l'aptitude de l'hôte à se défendre. Ainsi, le parasitisme est, au même titre que la prédation et la compétition, un moyen de régulation des populations dans les écosystèmes, qui peut se faire selon un processus « top-down » (*i.e.* contrôle par le haut du réseau trophique, au niveau des prédateurs supérieurs) ou un processus « bottom-up » (*i.e.* contrôle par la base du réseau trophique, bien souvent lié à l'accès aux ressources), puisqu'il peut s'appliquer sur tout organisme de ces différents niveaux (Hudson et al., 2006). Les virus, qui infligent à leurs hôtes des maladies infectieuses, sont des parasites intracellulaires obligatoires.

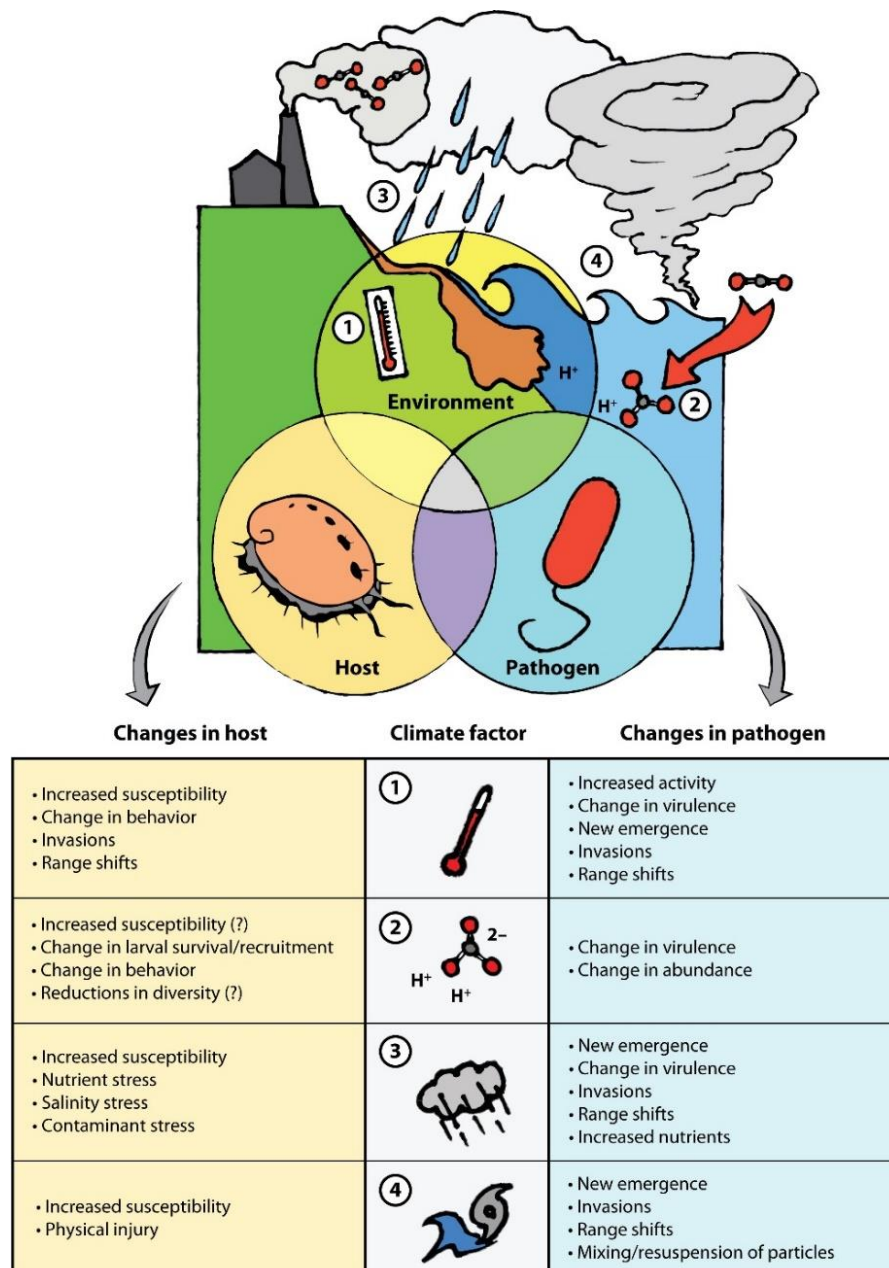
## 1.5. Les maladies infectieuses et leur transmission dans les écosystèmes

### 1.5.1) *Lien entre biodiversité et émergence de maladies*

Les maladies infectieuses sont un des éléments majeurs qui déterminent le fonctionnement des écosystèmes. Par l'infection, l'installation et la multiplication d'agents pathogènes dans un hôte, l'ensemble des perturbations physiologiques et des lésions induites caractérisent ces maladies. En écologie, la virulence d'un organisme pathogène est fonction de la diminution de valeur sélective de l'hôte infecté, en termes de survie ou de reproduction. Elle réfère à l'intensité du pouvoir pathogène, correspondant au degré de rapidité de multiplication ou vitesse d'envahissement. En lui-même, le risque de maladie auquel sont soumis les organismes dépend des interactions hôte-pathogène-environnement et tout déséquilibre dans l'un de ces éléments peut entraîner l'émergence d'agents infectieux ou l'augmentation de leur virulence (Figure 1). La relation entre un pathogène et son hôte est d'ailleurs constamment soumise aux variations de leur environnement (Burge et al., 2014).

Ces trois composantes que sont l'hôte, le pathogène et l'environnement, peuvent être considérées comme établissant un « interactome » qui influence la dynamique de maladie (Arthur et al., 2017; King et al., 2019b).

La notion épidémiologique de pathogénicité (*i.e.* pouvoir pathogène) se décrit par la capacité d'un agent pathogène, ayant une virulence connue, de déclencher une maladie chez différents hôtes ou sous différentes conditions environnementales. Les variations abiotiques dans l'environnement modulent en effet le risque d'émergence de pathogènes et leurs interactions avec leurs hôtes (Burge et al., 2014; Harvell et al., 2002).



**Figure 1.** Influence des paramètres environnementaux sur les hôtes et les agents pathogènes dans le milieu marin (Burge et al., 2014).

Les maladies influencent la structure des communautés, ainsi que les interactions trophiques et biotiques. En particulier, la perte de biodiversité locale favoriserait la prévalence de maladies (Lamb et al., 2017). Ainsi, l'actuel déclin de la biodiversité, qui non seulement induit une diminution de la capacité des communautés à procurer des services écosystémiques fondamentaux, accentuerait en plus l'émergence de pathogènes (Keesing et al., 2010). En effet la biodiversité permettrait d'atténuer, voire réduire, le risque de maladie dans les écosystèmes par un phénomène qui est décrit selon le concept de « l'effet dilution ». Ce terme serait apparu plusieurs fois dans des articles sur l'écologie des maladies (Power, 1987; Hochberg, 1991) avant des caractérisations formelles plus récentes (Van Buskirk and Ostfeld, 1995; Norman et al., 1999; Ostfeld and Keesing, 2000a,b), qui ne coïncident plus vraiment avec les premières utilisations du terme (Keesing et al., 2006). Le concept évoque l'idée que plus un nombre important d'espèces co-occurrent dans un milieu, plus un agent pathogène aura des difficultés à infecter efficacement son hôte cible et donc à se transmettre d'un individu à un autre. Il sera comme dilué dans l'environnement par la diversité spécifique. Il prédit donc que le risque de maladie augmente pour un animal lorsque la diversité des espèces hôtes diminue (Keesing et al., 2010; Strauss et al., 2015; Civitello et al., 2015; Lamb et al., 2017; Ostfeld and Keesing, 2017).

#### *1.5.2) Le rôle du microbiome dans la pathogenèse d'un holobionte*

De plus en plus, le microbiome, défini au sens large comme un ensemble de microorganismes vivant avec un hôte (bactéries, archées, virus, champignons et eucaryotes unicellulaires), est reconnu comme un facteur modifiant les interactions avec les agents pathogènes et l'étude des maladies intègre désormais la considération de l'holobionte dans toute sa complexité. Le concept de pathobiome, qui émerge de cette vision plus moderne, rompt avec les « postulats de Koch » (1884) et « critères de Hill » (1965), qui établissent une relation de cause à effet



entre un microbe responsable et une maladie (Fedak et al., 2015; Vayssier-Taussat et al., 2014) et met en évidence le rôle du microbiome dans la pathogénèse (Sweet and Bulling, 2017; Bass et al., 2019). Les connaissances actuelles indiquent que de nombreux agents pathogènes opèrent avec d'autres micro-organismes au sein de vastes communautés, qui génèrent des interactions complexes susceptibles d'entraîner des processus pathologiques (Chow et al., 2011; Rogers, 2012). Il s'agit d'une vision plus « écologique » de l'étude des maladies infectieuses qui prend en compte de multiples facteurs (Wilson, 1995), contrairement à la vision plus « classique » d'un unique pathogène pour une maladie (Koch, 1884).

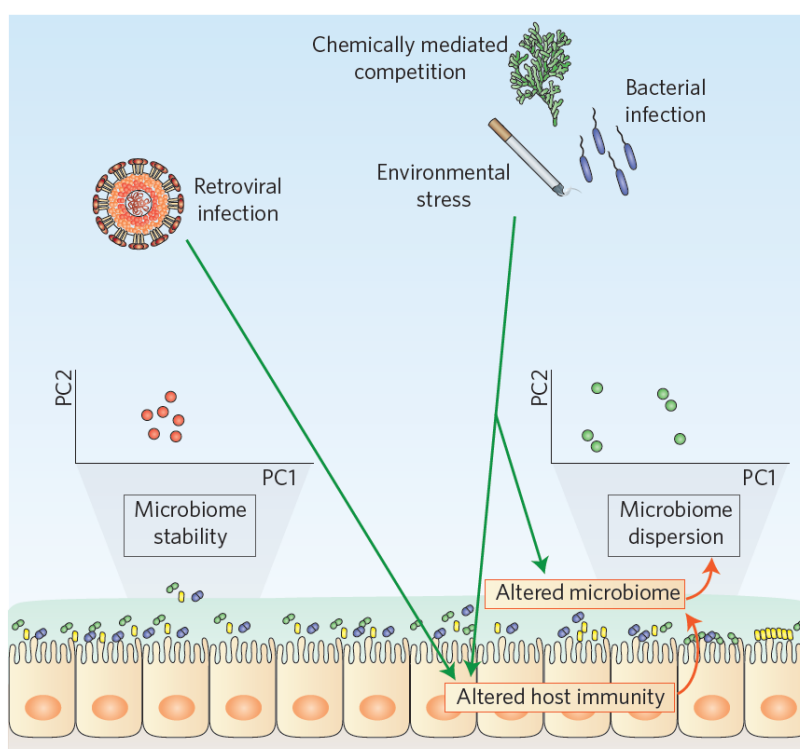
Au cours de la dernière décennie, plusieurs travaux, également menés sur le symbiote humain, suggèrent qu'une combinaison de facteurs environnementaux, immunitaires et génétiques de l'hôte, ainsi qu'une perturbation du microbiome, jouent un rôle dans l'établissement et la gravité des maladies (Legatzki et al., 2014; Buttó et al., 2015; Donaldson et al., 2015; Hajishengallis and Lamont, 2016; Egan and Gardiner, 2016).

Différentes études attestant de la variabilité du microbiome associée à une maladie ont conduit plusieurs chercheurs à proposer le principe « Anna Karenine »<sup>2</sup> pour décrire les états de stabilité des microbiomes animaux qui peuvent promouvoir la déclaration de maladies (Zaneveld et al., 2017). Ce principe est basé sur l'idée qu'il existe un pattern de l'état stable d'un microbiote qui est partagé par les individus sains dans une population, alors que certains facteurs de stress ont des effets stochastiques (liés au hasard), plutôt que déterministes, sur la composition de la communauté microbienne (Figure 2). Ainsi, un état de dysbiose ne se traduira pas de la même manière d'un individu malade à un autre.

---

<sup>2</sup> The 'Anna Karenina Principle' (AKP), en parallèle avec le dicton de Léon Tolstoï, tiré de son roman « Anna Karenine » et selon lequel « toutes les familles heureuses se ressemblent; chaque famille malheureuse est malheureuse à sa manière » (Zaneveld et al., 2017).

Mais ce principe est encore peu discuté dans la littérature concernant les études autour du microbiote (Zaneveld et al., 2017).



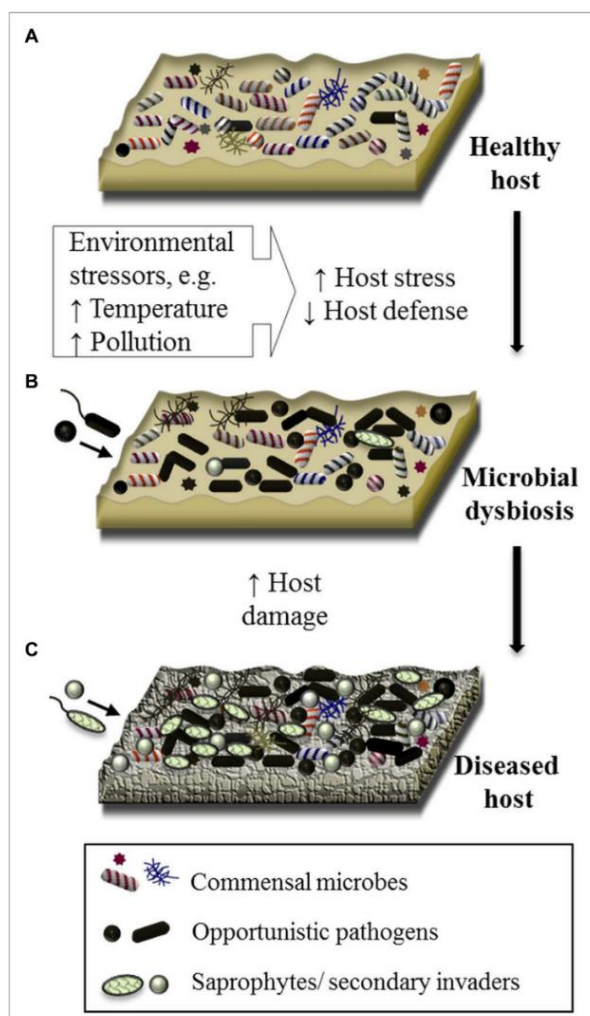
**Figure 2.** Illustration hypothétique du 'principe Anna Karenine' montrant des perturbations induisant une déstabilisation du microbiome. Le graphique de gauche présente un microbiote relativement stable possédé par des hôtes sains (clusters serrés dans l'espace d'ordination). Le graphique de droite, au contraire, témoigne d'un microbiote perturbé par divers facteurs de stress externes, entraînant une plus grande dispersion (déplacement de ces groupes dans l'espace d'ordination) (Zaneveld et al., 2017).

### 1.5.3) Maladies en milieu marin

Par rapport aux systèmes terrestres, peu de choses sont connues sur les causes sous-jacentes de beaucoup de maladies se transmettant dans les écosystèmes marins (Egan and Gardiner, 2016). Spécifiquement en milieu marin, les maladies peuvent altérer les populations et causer des changements majeurs dans les communautés en se propageant très rapidement (Harvell et al., 2004), malgré des distances de dispersion plus importantes qu'en milieu terrestre (McCallum et al., 2004). Ces milieux connaissent une augmentation de la fréquence des maladies, touchant une grande diversité d'espèces différentes, avec des vitesses de

propagation plus rapides pour certaines épidémies par rapport aux écosystèmes terrestres, où il demeure possible de physiquement stopper une transmission de maladie, ce qui est plus compliqué dans l'océan (Harvell et al., 2004; McCallum et al., 2004; Ward and Lafferty, 2004). D'autant que la planète connaît actuellement des changements globaux qui induisent des variations climatiques, dont l'élévation des températures favorise le développement de maladies infectieuses, en plus d'impacter les écosystèmes et leurs biocénoses à tous les niveaux (Harvell et al., 1999; Harvell et al., 2002; Lafferty and Holt, 2003; Harvell et al., 2004; Lafferty et al., 2004; Altizer et al., 2013; Burge et al., 2014; Lafferty et al., 2015; Byers, 2021). Au même titre qu'en milieu terrestre, les interactions hôte-pathogène sont vulnérables aux changements de l'environnement (Burge et al., 2014). Néanmoins les effets potentiels des autres espèces animales ou végétales sur le risque infectieux en milieu marin sont peu connus, car la plupart des expériences et des modèles considèrent l'hôte et le pathogène de manière isolée, comme dans un « vide écologique » (Ben-Horin et al. 2015; Cory and Deschodt, 2017). Avec les pressions environnementales croissantes exercées sur nos habitats marins, la prévalence et la gravité des maladies affectant les organismes marins pourraient s'accroître davantage (Lesser et al., 2007; Burge et al., 2013; Burge et al., 2014). En outre, des facteurs tels que les colonisations par des organismes saprophytes (*i.e.* qui vivent dans l'organisme sans être pathogènes) et le manque de données sur les individus en bonne santé, rendent difficile l'évaluation précise du rôle de pathogènes microbiens spécifiques dans les états pathologiques (Egan and Gardiner, 2016). De plus en plus de preuves émergent pour suggérer que les maladies résultent d'un déséquilibre du microbiome, une dysbiose augmentant les infections opportunistes ou polymicrobiennes et remettant en question la vision simple d'un agent pathogène unique (Egan and Gardiner, 2016). La maladie peut résulter de la prolifération d'un certain nombre d'agents pathogènes opportunistes en cas de dysbiose du

microbiome de l'hôte à cause de pressions environnementales ou d'un stress engendré (Lesser et al., 2007; Burge et al., 2013; Egan et al., 2014; Egan and Gardiner, 2016) (Figure 3).



**Figure 3.** Proposition de schéma de l'implication de la dysbiose microbienne, des pathogènes opportunistes et des interactions polymicrobiennes dans la maladie des organismes marins. **(A)** La surface d'un organisme marin sain (hôte sain) est colonisée par un consortium de micro-organismes commensaux, qui peuvent inclure des bactéries, des archées, des micro-eucaryotes et des virus. **(B)** Dans des conditions de pression environnementale élevée, l'hôte peut être stressé, ce qui a un impact négatif sur ses mécanismes de défense. Sur cet hôte sensible, des pathogènes opportunistes ou des consortiums pathogènes dans le cas d'une infection polymicrobienne prolifèrent, entraînant un état de dysbiose microbienne. **(C)** Les pathogènes microbiens, ainsi que les saprophytes ou les colonisateurs secondaires causent des dommages supplémentaires à l'hôte, ce qui entraîne une maladie invisible (Egan and Gardiner, 2016).

Ce cas spécifique de dysbiose est appelé « effet Raspoutine », où des endosymbiontes bénins commensaux deviennent opportunément nuisibles à l'hôte, en raison de perturbations et de

processus tels que la réduction de la réponse immunitaire en cas de privation de nourriture, de coinfections ou de pression environnementale (Overstreet and Lotz, 2016). Ces changements de conditions peuvent aboutir au déplacement d'un microorganisme dans l'hôte à un endroit où il ne devrait pas se trouver, ou à sa prolifération excessive. En particulier, la maladie peut résulter de la prolifération d'agents pathogènes opportunistes dans un organisme en raison d'une dysbiose de son microbiome, liée à des pressions environnementales ou à un stress (Lesser et al., 2007; Burge et al., 2013; Egan et al., 2014; Egan and Gardiner, 2016). Ainsi, pour comprendre et gérer les maladies à l'avenir, il est nécessaire de distinguer et de comprendre les symbioses microbiennes dans les états sains et malades d'un holobionte.

En outre, les propriétés physiques de l'eau entraînent une connectivité chimique et des échanges plus élevés entre macro et micro-organismes dans les environnements aquatiques (Dittami et al., 2021). De ce fait, dans les écosystèmes marins, les flux de matière semblent être plus rapides et les modes trophiques plus flexibles, ce qui entraîne une plus grande plasticité des interactions fonctionnelles entre les holobiontes (Mitra et al., 2014). De plus, les barrières de dispersion sont généralement plus restreintes, ce qui permet des changements de communautés microbiennes plus rapides dans les holobiontes marins (Kinlan and Gaines, 2003; Burgess et al., 2016; Martin-Platero et al., 2018). De surcroît, la diversité phylogénétique est plus élevée dans les milieux aquatiques par rapport aux terrestres, et une grande partie reste à découvrir (De Vargas et al., 2015; Thompson et al., 2017). Cela suggère un fort potentiel d'interactions complexes entre les lignées qui restent à explorer chez les holobiontes marins (Dittami et al., 2021). Toute perturbation des écosystèmes microbiens semble donc probable de se produire assez couramment, témoignant d'une stabilité fragile qui n'est vraisemblablement pas en faveur de l'hôte face aux maladies.

## II. L'huître creuse comme modèle d'étude

### II.1. Origines et histoire

Parmi les animaux communément appelés huîtres, il existe une centaine d'espèces différentes dont les ancêtres supposés appartiendraient aux familles fossiles des *Pseudomonotidae* (Newell, 1938) des *Arcidae* (Lamarck, 1809), ou des *Pteriidae* (Gray, 1847). L'ordre des Ostreida, qui contient la plupart des espèces comestibles et perlières actuelles, émerge à la fin du Permien il y a 250 millions d'années (Plazzi and Passamonti, 2010). La superfamille des *Ostreoidea* serait apparue à la fin du Trias, il y a environ 200 millions d'années (Carter, 1990 ; Hautmann, 2006; Bayne, 2017), se répandant plus abondamment au cours du Jurassique et du Crétacé. Les huîtres creuses de genre *Crassostrea* datent du Jurassique moyen (160 millions d'années) et les huîtres du genre *Ostrea* remontent au Crétacé (80 millions d'années).

L'Homme a depuis toujours consommé des huîtres sur le littoral. Au cours de son histoire, il a su exploiter cette ressource et en tirer de nombreux bénéfices. Au V<sup>ème</sup> siècle avant notre ère, dans la Grèce antique, des votes citoyens se faisaient grâce à l'utilisation de coquille d'huîtres pour y inscrire la décision d'exclure temporairement un individu ou un groupe de la communauté, une pratique qui a donné le mot français « ostraciser »<sup>3</sup>. Dans la Rome antique, les romains auraient eu une grande consommation de ce coquillage et un commerce florissant d'huîtres. Le romain Sergius Orata aurait été le fondateur de l'ostréiculture européenne, un siècle avant notre ère, en créant des parcs à huîtres dans des lagunes et en y plaçant des animaux qu'il récoltait sur le littoral pour les faire grandir (Boyer, 1967). Par la suite, les romains fixaient les larves d'huîtres sur des branches d'arbres et sont parvenus à maîtriser l'entièreté du cycle de vie.

---

<sup>3</sup> Du grec οστρακον « *ostrakon* » qui signifie coquille d'huître.

En France, les gisements naturels d'huîtres plates *Ostrea edulis* (Linnaeus, 1758), une espèce endémique européenne, sont exploités depuis le Moyen-Âge. À la Renaissance, Paris connaît de nombreux marchands d'huîtres, époque où la consommation était en plein essor (Lescroart, 2017). Les premières cultures d'huîtres s'établissent sur la côte Atlantique au XVII<sup>ème</sup> siècle, où les naissains sont gardés dans les marais salants. C'est le début de l'ostréiculture en Europe (Gouletquer and Heral, 1997; Buestel, et al., 2009; Troost, 2010). À partir du XVIII<sup>ème</sup> siècle, la production augmente drastiquement, si bien qu'à chaque endroit où les huîtres sont de plus en plus prélevées, des prémices de pénurie s'annoncent. Des interdictions de pêche temporaires voient alors le jour vers 1750 pour tenter de protéger la ressource, ainsi que des autorisations spéciales d'exploitation du domaine public maritime (Jouzier, 1998). Des systèmes de plancher-collecteur sont même élaborés et installés au-dessus des bancs durant la période de frai afin de collecter le naissain, qui peut alors être capable de repeupler et recréer des bancs. De manière concomitante, le captage du naissain est alors développé et permet d'implanter la culture d'huîtres sur les côtes atlantiques et méditerranéennes, en s'inspirant des techniques romaines. Mais les gisements d'huîtres plates naturels étant très appauvris et fragilisés au XIX<sup>ème</sup> siècle, Napoléon III encourage l'importation d'huîtres portugaises, *Crassostrea angulata* (Lamarck, 1819). Cette huître remplace bien la native des côtes françaises et sa production évince presque celle de l'huître plate. Mais par la suite, deux événements majeurs vont marquer l'ostréiculture européenne avec l'apparition d'épizooties (*i.e.* épidémies animales), d'une part pour l'huître plate et d'autre part pour l'huître portugaise.

Entre 1968 et 1970, les bancs d'huîtres plates sont déjà bien réduits par la surpêche et subissent en plus d'importantes épizooties, par l'introduction accidentelle de parasites tels que *Marteilia refringens* et *Bonamia ostreae*, provoquant respectivement la marteiliose et la

bonamiose (Grizel, 1983). Cette série d'évènements entraîne un déclin des populations et des extinctions locales d'*Ostrea edulis*. De même, à partir de 1967, des épidémies surviennent chez l'huître portugaise et sont attribuées à un virus, de type iridovirus (Comps et al., 1976), provoquant entre autre la maladie des branchies et la maladie hémocytaire, ce qui va complètement éradiquer *Crassostrea angulata* (Comps, 1988). Afin de remédier à ces pertes et sauver les professions dépendantes de l'ostréiculture, l'huître creuse du Pacifique en provenance du Japon, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1973), aussi caractérisée par l'appellation alternative de *Magallana gigas*, est introduite dans plusieurs pays européens au cours des années 1960 (Troost, 2010) et est distribuée massivement dans les différents bassins ostréicoles français entre 1971 et 1975 (Grizel and Heral, 1991). Son transfert sur les côtes américaines, australiennes et européennes a permis de pallier l'épuisement des stocks appauvris par la surexploitation et décimés par les maladies.

Une fois son installation en Mer du Nord, Manche, Atlantique et Méditerranée, l'espèce *C. gigas* s'est très bien acclimatée à son nouvel environnement et s'est même établie le long de la côte européenne jusqu'à devenir invasive à certains endroits (Troost, 2010). En effet, elle s'adapte à des conditions environnementales très variées, ce qui lui confère une forte capacité d'expansion de sa zone de répartition. Actuellement, elle est présente le long des côtes de la quasi-totalité des continents (Miossec et al., 2009). L'huître creuse représente la majeure partie des huîtres produites dans le monde, toutes espèces confondues.

En 2018, d'après un rapport de 2020 rédigé par l'organisation de l'alimentation et de l'agriculture (Food and Agriculture Organisation, FAO), la conchyliculture a produit 17,3 millions de tonnes de ressources, représentant 56,3% de la production de l'aquaculture marine et côtière mondiale (FAO, 2020). Dans ce même rapport, il est stipulé que sur les



17 510 900 tonnes de mollusques produits en aquaculture en 2018, 5 171 100 tonnes sont du genre *Crassostrea*, soit 29,5%, et 643 500 tonnes sont des huîtres creuses du Pacifique, soit 3.7% de la production mondiale de mollusques. Les principaux producteurs d'huîtres dans le monde sont la Chine (86%), suivie de la Corée (6%), du Japon (3%), des Etats-Unis d'Amérique (2%) et enfin de la France (1%). L'Hexagone est donc le 5ème producteur mondial et le 1er producteur européen. L'ostréiculture constitue donc en une activité économique très importante à l'échelle du pays.

## II.2. Biologie de l'huître creuse

### II.2.1) Caractères anatomiques et mode de vie

L'huître creuse du Pacifique connaît actuellement deux appellations différentes relatives à son nom d'espèce, qui sont aujourd'hui encore discutées par la communauté scientifique (Bayne, 2017). En effet, une récente étude basée sur de nouvelles données moléculaires a proposé le reclassement de *Crassostrea gigas* comme appartenant au genre *Magallana*, devenant ainsi l'espèce *Magallana gigas* (Salvi and Mariottini, 2016). Cependant, le nombre de gènes étudiés est faible et les analyses n'ont pas été effectuées sur la totalité des espèces de la sous-famille *Crassostreinae* (Bayne, 2017). Ainsi, les deux noms *C. gigas* et *M. gigas* sont communément acceptés dans la littérature. Dans ce manuscrit, a été fait le choix d'utiliser uniquement le nom *C. gigas* pour référer à l'huître creuse ou l'huître du Pacifique.

Cet animal est classé dans le monde du vivant selon cette systématique :

Règne : Metazoa

Phylum : Mollusca

Classe : Bivalvia

Ordre : Ostreida

Famille : Ostreidae

Genre : *Crassostrea*

Espèce : *Crassostrea gigas*

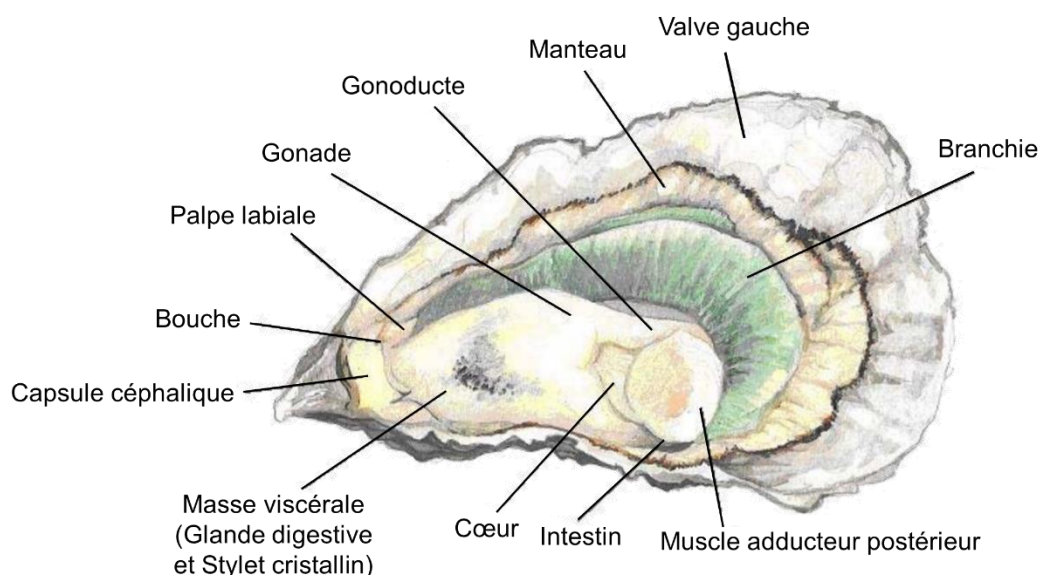
Dans le règne animal des Metazoa, cette huître appartient à l'embranchement des Mollusca, caractérisant les animaux au corps mou, organisés selon une symétrie bilatérale et comportant un manteau, tissu ayant la capacité de sécréter une coquille calcaire. Au sein de ce Phylum, l'huître fait partie de la Classe des Bivalvia, son corps étant protégé par une coquille constituée de deux valves, dites inéquivalves, car pas totalement symétriques et inéquilatérales, d'apparence laminées. Ces deux valves, reliées entre elles par une charnière souple, permettent de protéger l'organisme des prédateurs et constituent un exosquelette dont l'ouverture et la fermeture sont actionnées par un muscle adducteur, composé de fibres musculaires lisses et striées, attaché sur la partie intérieure de la coquille (Gosling, 2015). L'huître pourra ainsi fermer sa coquille lors d'un stress ou en période d'exondation. La charnière entre les valves est composée d'un ligament et d'une série de quelques dents régressées et d'emboitements le long de la ligne palléale, qui empêchent les valves de glisser l'une contre l'autre. Les particularités de cette charnière classent les huîtres dans la sous-classe des Pteriomorphia (Beurlen, 1944) et la caractérisent comme étant dysodonte, réduites à quelques dents symétriques. Bien que la coquille de *C. gigas* aura tendance à être dans tous les cas oblongue et avec un bord crénelé, la forme et l'aspect des coquilles d'huître sont très variables, car elles dépendent de la structure du substrat sur lequel sera fixé l'animal et effectuera sa croissance tout au long de sa vie. La valve inférieure gauche qui est naturellement fixée est profondément creuse (ce qui vaut d'ailleurs à ce genre *Crassostrea* son appellation d'huître creuse) par rapport à la valve supérieure qui est beaucoup plus plate, comme un couvercle, et qui vient se superposer légèrement à l'intérieur de l'autre. La partie antérieure de l'individu se termine par un crochet et l'umbo, l'extrémité saillante et proéminente des valves à proximité de la charnière, constituant une protubérance souvent noueuse et arrondie, qui se forme lorsque l'animal est jeune (prodissoconque) et où la coquille

s'agence alors radialement autour. La coquille est, comme pour tous les mollusques, constituée de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ), dont l'extérieur est recouvert d'une très fine matrice protéique, le périostracum, composé du polysaccharide  $\beta$ -chitine, une protéine hydrophobe et un assemblage complexe de protéines hydrophiles riches en acide aspartique (Gosling, 2015; Addadi et al., 2006). L'intérieur de la coquille lui, est pour la plupart des mollusques composé de prismes d'aragonite (responsables de la décomposition de la lumière qui donne des reflets nacrés) liés par une protéine nommée conchyoline, et de plaques de calcite, deux formes de minéraux de  $\text{CaCO}_3$  cristallographiquement agencés différemment. La coquille des huîtres, elle, est presque entièrement calcitique, avec une couche prismatique externe très mince enrobée de conchyoline. La plus grande partie de la coquille est constituée d'une structure foliacée, feuilletts de calcite formant une couche lamelleuse sub-nacrée, entre de minces membranes de conchyoline (Marteil, 1976). L'aragonite est réduite dans le prodissoconque, le ligament et le myostraca (Stenzel, 1962 ; Stenzel, 1963). Cette particularité de produire des tablettes nacrées de cette nature classe d'ailleurs les huîtres au sein de l'Ordre des Ostreida, groupe pour lequel on trouve une perte d'aragonite (Taylor and Kennedy, 1969; Furuhashi et al., 2009; Lemer et al., 2016).

C'est le manteau, tissu conjonctif composé de deux lobes et entourant la cavité palléale et les organes de l'huître, qui sécrète cette coquille. La sécrétion se fait dans un petit espace rempli de liquide en bordure de la coquille, scellé par le périostracum et les cellules épithéliales du manteau. Ces cellules libèrent des ions minéraux provenant du cytoplasme, et des composants organiques sécrétés par exocytose (Marin and Luquet, 2005). Le pli externe du manteau sécrète les couches protéiques, tandis que la couche nacrée interne est sécrétée par la majeure partie de la surface du manteau. Les protéines de la matrice de la coquille jouent un rôle clé dans le processus de minéralisation (Marin and Luquet, 2004; Inoue et al., 2010;

Jackson et al., 2010). La coquille est fabriquée en circonférence par l'ajout de matériel provenant du bord du manteau, et croît en épaisseur par dépôt depuis la surface générale du manteau. L'apport de calcium nécessaire à la coquille provient de l'alimentation et de l'eau de mer. Le carbonate est dérivé des réserves de CO<sub>2</sub> et de bicarbonate dans les tissus de l'animal (Gosling, 2015).

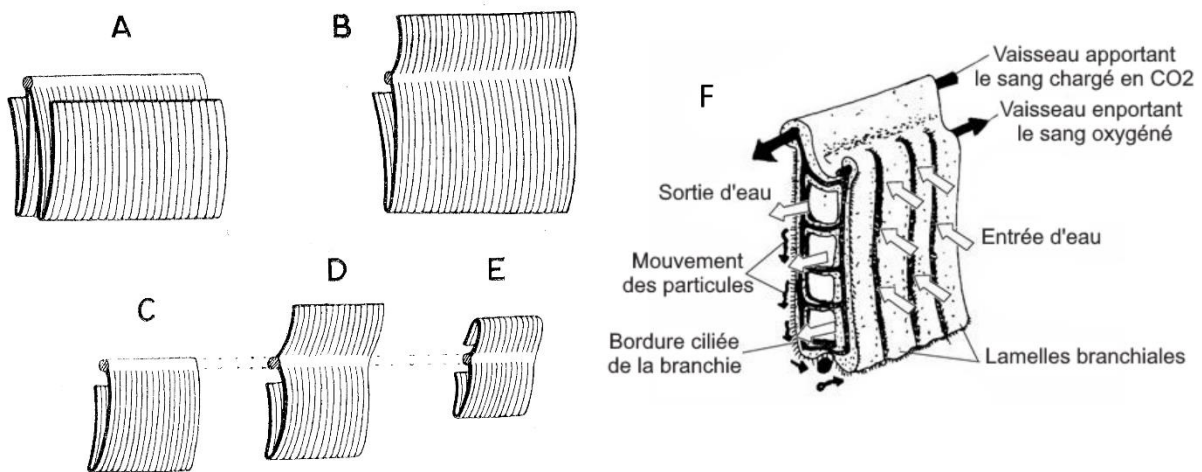
Le corps de l'huître comprend différents organes assurant les grandes fonctions physiologiques nécessaires à sa survie (Figure 4).



**Figure 4.** Anatomie de l'huître creuse (modifié d'après Normand, 2009) ©Julien Normand.

Le manteau est parcouru par des vaisseaux contenant le fluide circulatoire ou l'hémolymphe, un réseau de nerfs, des muscles et constitue un tissu multifonctionnel où, en plus de la calcification, se déroulent la gamétogenèse et le stockage des réserves énergétiques, comme le glycogène. Les cils de la surface interne du manteau jouent un rôle important d'acheminement des particules vers les branchies et de déviation des matériaux lourds vers l'entrée inhalante. Il comporte deux lobes soudés l'un à l'autre sur le bord antérodorsal, formant le capuchon céphalique.

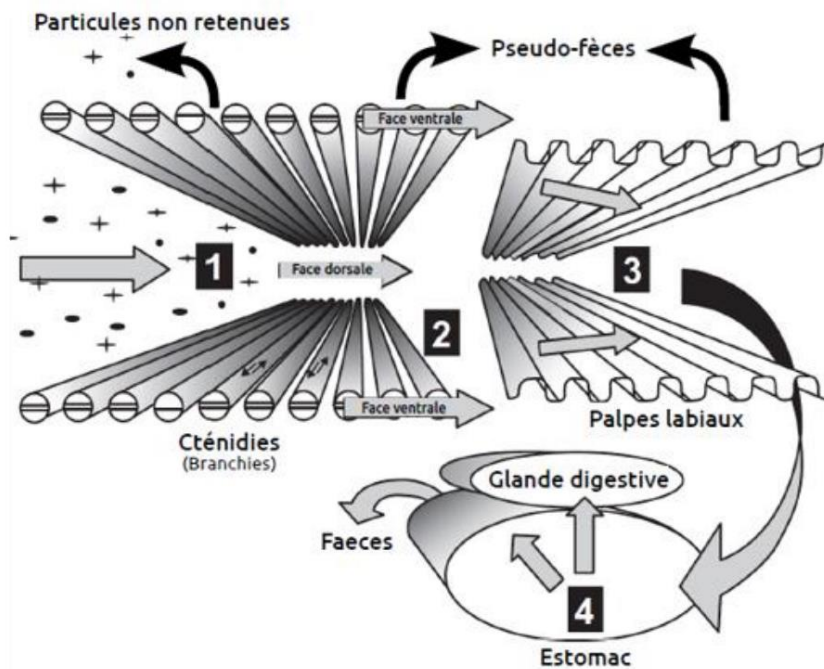
L'huître creuse fait également partie de la famille des Ostreidae, caractérisées par des branchies, aussi appelées cténidies, de type eulamellibranches et formant deux grandes structures à plusieurs feuillets fusionnés selon un axe cténidial, lui-même soudé au bord dorsal du manteau (Figure 5). Les filaments sont reliés à intervalles réguliers par des connexions tissulaires ou jonctions interfilamentaires, laissant entre eux des ouvertures étroites appelées ostia. Mais chez les huîtres, les jonctions interfilamentaires sont moins étendues que chez la plupart des autres espèces eulamellibranches, ce qui leur vaut parfois l'utilisation du terme pseudolamellibranches (Gosling, 2015).



**Figure 5.** Schéma de la structure des feuillets branchiaux des Lamellibranches (Idewood, 1903). (A) Portion d'une branchie avec feuillets ascendants et descendants, internes et externes (en forme de W). (B) Portion de branchie montrant le dessous d'une lamelle branchiale. (C, D et E) Portions antérieure, moyenne et postérieure du milieu d'une branchie, avec lamelles branchiales en partie supérieure. (F) Schéma du courant d'eau induit à travers une branchie de Lamellibranche, avec des jonctions interfilamentaires visibles.

Étant des animaux filtreurs, leurs branchies mettent en mouvement l'eau de mer et ont un rôle à la fois dans la respiration et dans l'alimentation. Les branchies ont une grande surface d'échange avec le milieu et sont irriguées par l'hémolymphe. Lorsque l'eau passe au travers des branchies, l'oxygène dissous dans l'eau de mer diffuse à travers la branchie vers l'hémolymphe. Au-delà d'assurer ce rôle fondamental dans la respiration de l'animal, la branchie agit également comme filtre pour retenir les particules en suspension contenues

dans l'eau, pour satisfaire le régime suspensivore des huîtres dont la source principale de nourriture est le phytoplancton (Figure 6). Cependant, par cette action de filtration, l'animal ne fait pas de tri entre les différents éléments tant que les particules alimentaires mesurent 8 à 9  $\mu\text{m}$  (Heral, 1985). Ainsi, le zooplancton, les bactéries, ou encore de la matière organique en suspension, font aussi partie de son régime alimentaire. Les cils à la surface des branchies assurent un battement qui permet l'acheminement des particules vers les palpes labiaux, qui sélectionnent la bonne taille de particules pour les mener à la bouche, entrée du système digestif (Figure 6).



**Figure 6.** Schéma des possibilités de sélection des particules chez les bivalves lamellibranches. Les flèches indiquent le mouvement général de la matière particulaire depuis le milieu extérieur à travers les organes d'alimentation et de digestion. (1) Capture préférentielle par les cténidies entraînant la non-rétention de certaines particules; (2) sélection et transport différentiel par les cténidies entraînant le rejet de certaines particules sous forme de pseudo-fèces; (3) sélection par les palpes labiaux entraînant l'ingestion préférentielle de certaines particules et la production de pseudo-fèces; (4) sélection dans l'estomac et transport préférentiel de certaines particules vers les diverticules digestifs. Le matériel non absorbé est expulsé sous forme de fèces (modifié d'après Ward and Shumway, 2004).

La surface interne de chaque palpe fait face à la branchie, et comporte des crêtes et rainures avec une série complexe de voies ciliaires. Les surfaces externes des palpes sont lisses et sont séparées des surfaces internes par un tissu musculaire de connexion. La principale fonction des palpes labiaux est de retirer continuellement les particules sur les branchies afin d'éviter leur saturation (Gosling, 2015). Après la bouche, la ciliature de l'œsophage permet ensuite le transport des aliments à l'estomac de l'animal. Dans cet organe se trouve le stylet cristallin, qui assure un broyage mécanique et une digestion enzymatique extracellulaire. La rotation du stylet facilite le processus de mélange (Gosling, 2015). Vient par la suite un nouveau tri du bol alimentaire dans l'estomac. Les plus grosses particules seront dirigées vers l'intestin, tandis que les plus fines seront acheminées vers la glande digestive où a lieu une digestion par phagocytose, intracellulaire cette fois-ci. Dans l'intestin, les nutriments sont absorbés pour assurer le bon fonctionnement du métabolisme énergétique de l'huître. Dans la partie terminale de ce système digestif, le rectum est l'endroit où se rassemblent les matières fécales, avant d'être déféquées et évacuées par l'anus.

Comme les autres bivalves, l'huître possède un cœur, des artères, des veines et des sinus de dimensions variées (Marteil, 1976). Le cœur est contenu dans la cavité péricardique sous le muscle adducteur et est constitué d'un ventricule musculaire et de deux oreillettes. L'hémolymphe, fluide constitué de cellules hyalines et de cellules granuleuses ou amibocytes, se charge en oxygène au niveau de la branchie, puis chemine jusqu'aux oreillettes et au ventricule du cœur. Il se fait par la suite propulser par leur contraction dans l'aorte antérieure, qui se divise en de nombreuses artères, elles-mêmes subdivisées en vaisseaux irriguant les tissus et se regroupant en veines (Gosling, 2015). Un fois désoxygéné au niveau des organes, une partie est alors envoyée jusqu'au rein (organes de Bojanus), constitué d'une glande tubulaire et débouchant dans la chambre exhalante où les déchets qu'il véhicule sont excrétés

(Marteil, 1976). En plus de jouer un rôle fondamental dans les échanges gazeux, l'hémolymphe est le siège de l'osmorégulation, de la distribution des nutriments, de l'élimination des déchets et de la défense de l'organisme.

L'huître a un système nerveux peu développé, comprenant une paire de cellules nerveuses agrégées au niveau des palpes labiaux, près de la bouche, formant les ganglions cérébroïdes ou ganglion cérébro-pleural et une paire de ganglions viscéraux fusionnés sous le muscle adducteur (Marteil, 1976). Du ganglion cérébro-pleural partent des nerfs destinés au manteau, à la bouche et à la partie antérieure du corps de manière générale, alors qu'au niveau des ganglions viscéraux s'innervent les nerfs allant au muscle adducteur et à la région postérieure.

L'huître creuse atteint la maturité sexuelle dès sa première année de développement et se reproduit tous les ans. La maturation des gamètes dépend de la température. Ainsi, la gamétogenèse se déroule durant le printemps et la maturité sexuelle est atteinte durant l'été. Pour se reproduire, l'huître possède une paire de gonades composée de glandes génitales acineuses agencées en tubules ramifiés (Gosling, 2015). Les gamètes bourgeonnent à partir de la paroi épithéliale de ces tubules. La connexion des tubules gonadiques forme le gonoducte, servant de jonction entre la gonade et la cavité palléale pour l'expulsion des gamètes. L'émission des gamètes a lieu dans la colonne d'eau, lorsque la température de l'eau de mer dépasse les 16°C à 18°C. Chez l'huître creuse, les mâles et les femelles sont séparés, mais l'animal a la capacité de changer de sexe en fonction des conditions. Elle a longtemps été considérée comme hermaphrodite protandre, commençant sa phase mature par le développement des gamètes mâles et en capacité de produire des gamètes femelles ultérieurement. On parle alors d'hermaphrodisme fonctionnel. La sexualité est dite

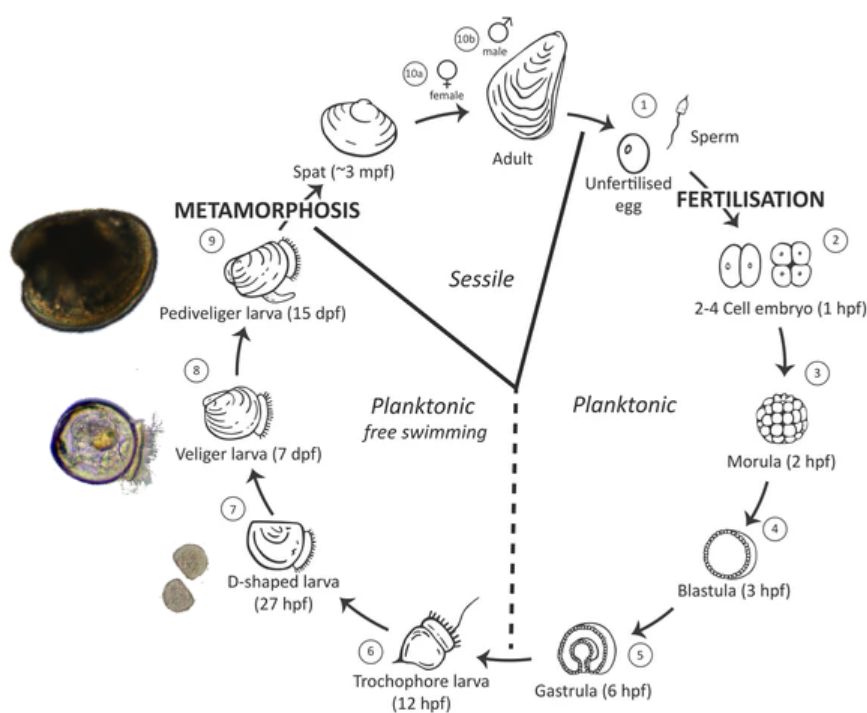


alternative, où la gonade prend une apparence gonochorique qui permet à l'huître de fonctionner comme mâle ou comme femelle au cours d'une saison et éventuellement de changer de sexe l'année suivante. De vrais hermaphrodites subsistent après le stade juvénile mais ils sont rares (Marteil, 1976). Un changement de sexe peut être sélectionné dans la nature car il permet à un individu de maximiser son succès reproducteur. Chez l'huître, ce changement a lieu uniquement lorsque l'organe sexuel est indifférencié après l'émission des gamètes (Bayne, 2017). La température ou encore la disponibilité en nourriture seraient des facteurs environnementaux qui influenceraient les processus moléculaires impliqués dans ces modifications (Bayne, 2017; Yue et al., 2018). La production d'ovocytes serait plus coûteuse en énergie que la production de spermatozoïdes, ainsi dans une population située dans un milieu où la quantité de nourriture est faible, les individus favoriseraient le sexe mâle afin d'optimiser l'utilisation de leurs réserves énergétiques (Bayne, 2017).

### II.2.2) Cycle de vie

Le cycle de vie de l'huître creuse comporte une première phase larvaire pélagique et une seconde phase sessile benthique. Les gamètes mâles et femelles de *C. gigas* sont tous deux expulsés dans l'eau environnante et la fécondation a lieu dans la colonne d'eau. Six heures après la fécondation, l'embryon évolue en larve trochophore (synapomorphie des Mollusca), qui ont une alimentation endogène et se nourrissent de leurs propres réserves. Deux à trois jours plus tard, elle évolue en larve D véligère et possède une bouche, un anus, une ébauche de coquille transparente et une double couronne de cils appelée prototroche. Elle peut nager activement et son alimentation devient exogène. Puis elle se développe en larve véligère (commune à tous les Mollusca marins) et le prototroche évolue en vélum, tandis que la croissance de la coquille continue. C'est ensuite le stade de larve pédivéligère qui permet la transition entre le mode de vie pélagique et le commencement de la vie benthique. Ces larves

ont alors un système nerveux organisé, un manteau, un cœur, des ébauches de branchies et un tractus digestif. Une fois déposées au fond après la sédimentation et grâce à leur pied, elles explorent le substrat à la recherche d'un endroit adéquat pour y entamer leur croissance d'organisme sessile, s'y fixent et continuent leur métamorphose. Ainsi, une vingtaine de jours après la fécondation, l'huître mesure environ 300  $\mu\text{m}$  et ressemble en tout point à un adulte miniature, définitivement fixée à son substrat pour y poursuivre son développement (Figure 7).



**Figure 7.** Cycle de vie de l'huître creuse *Crassostrea gigas* (Vogeler et al., 2016). Photographies des stades larvaires du Réseau Velygere (©Ifremer).

Les jeunes huîtres âgées de moins d'un an sont communément appelées « naissain ». Elles calcifient en période de croissance pour fabriquer de la coquille et grandir, jusqu'à allouer de l'énergie pour la maturité sexuelle durant le printemps, pour se reproduire en été, quand les températures sont favorables.

## II.3. Écologie de l'huître creuse

### II.3.1) *Services écosystémiques dans son environnement naturel*

En raison de son mode de vie fixé et de son régime suspensivore microphage, l'huître s'avère être un parfait reflet de son environnement, intégrant le moindre changement physicochimique intervenant localement. Étant sessile, elle est incapable de se déplacer à la recherche de conditions plus favorables et va donc subir toute variation de l'environnement. C'est par ailleurs un animal ectotherme, qui ne peut pas réguler sa température corporelle, et qui est donc totalement dépendant de la température extérieure et tributaire de ses variations. Ces traits en font un véritable buvard environnemental et une formidable « sentinelle de l'écosystème » pour la caractérisation de son état et le suivi des conditions du milieu. De manière générale, les bivalves sont des archives environnementales. Il est en effet possible d'accéder à des données paléo-environnementales physiques, chimiques et inscrites selon la stratification de croissance de leur coquille, ce qui peut permettre la reconstruction des paléo-climats (Schöne and Gillikin, 2013; Thébault and Chauvaud, 2013). L'huître constitue donc un organisme modèle intéressant pour les études scientifiques en milieu marin côtier.

Par ailleurs, outre son importance économique, elle fonctionne également comme un « ingénieur de l'écosystème » (Jones et al., 1994), en formant des constructions biogéniques dans des milieux en dehors des fermes ostréicoles (Grabowski et al., 2012). Le rassemblement et l'accumulation de nombreux individus sur une même surface peuvent former de véritables récifs prenant la fonction de cachette, d'abri, de support, ou de réserve de nourriture pour une grande variété d'êtres vivants et ainsi constituer un habitat précieux. En effet, de nombreux animaux y trouvent refuge, s'y reproduisent et s'y alimentent. D'autre part, le substrat dur que procurent ces coquilles sert de point d'ancrage à la fixation de nombreuses macroalgues marines, mais aussi de microalgues et de plein d'espèces microscopiques qui

peuvent pousser en biofilm et tapisser le coquillage. Ce milieu ainsi très diversifié en organismes attire donc de surcroît les prédateurs benthiques, mais aussi les espèces pélagiques qui viennent s'y nourrir ou y déposer leurs œufs, ce qui leur confère également une fonction de nurserie. La simple présence des huîtres dans les milieux côtiers peut donc enrichir localement la biodiversité marine, ce qui leur attribue un rôle essentiel dans le bon fonctionnement des écosystèmes côtiers (Bayne, 2017).

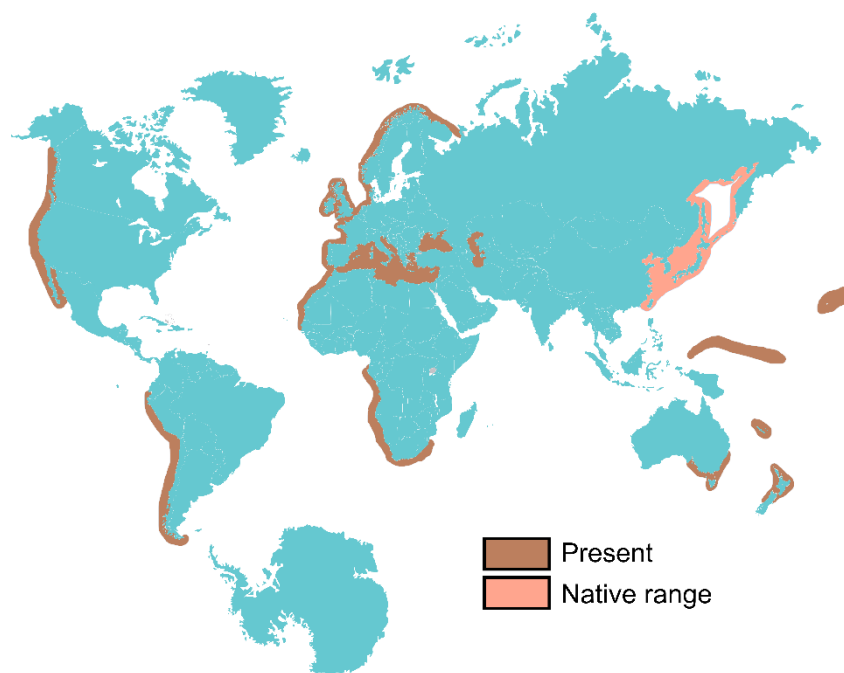
Les huîtres apportent donc beaucoup de services écosystémiques dont la stabilisation des sédiments et la lutte contre l'érosion côtière, le maintien d'une bonne qualité de l'eau avec le contrôle de la turbidité et des blooms de phytoplancton, certaines espèces pouvant s'avérer toxique pour l'environnement ou pour l'être humain. C'est grâce à sa grande capacité de filtration que l'huître contribue à l'épuration de l'eau, en fonctionnant en quelque sorte comme un filtre naturel. En effet, une huître adulte peut filtrer jusqu'à 5 litres d'eau par heure et permet de retirer une grande part de particules submicroniques. En « nettoyant » l'eau de mer des particules en suspension par leur filtration, elle permet ainsi une meilleure pénétration de la lumière jusqu'à la zone benthique et donc un meilleur développement d'organismes photosynthétiques. Elles contrôlent également la production primaire benthique, les biomasses phytoplanctoniques et limite ainsi le risque d'anoxie lors des efflorescences printanières et estivales (Newell et al., 2007). Cette filtration également associée à une forte biodéposition permet de réduire une éventuelle eutrophisation des zones côtières via la dénitrification (Newell et al., 2002; Newell, 2004).

Enfin, les récifs d'huîtres limitent l'érosion et protègent les habitats en agissant comme un brise-lames, atténuant l'énergie engendrée par les vagues, tempêtes et activités anthropiques (Beck et al., 2011; Grabowski et al., 2012).

Ces différents éléments apportent aux huîtres la particularité d'être considérées comme des espèces clef de voûte, terme introduit pour la première fois par Robert Paine en 1966, qui rapporte aux espèces ayant un impact significatif, voir disproportionné au regard de sa population, sur l'organisation d'un écosystème et l'assemblage des espèces (Paine, 1966; Paine, 1969).

### II.3.2) Invasions biologiques de l'huître creuse

Cependant, malgré tous ces effets bénéfiques conférés dans l'environnement, *C. gigas* est aussi une espèce considérée comme invasive dans beaucoup de milieux à la surface du globe (Figure 8).



**Figure 8.** Cartographie de la répartition de l'huître creuse *Crassostrea gigas* (d'après Molnar et al., 2008, modifié d'après la Banque d'images SMART Servier Medical ART) ©SERVIER.

L'huître creuse provenant du Japon a été introduite en tant qu'espèce non indigène dans plus de 70 pays, et a établi des populations reproductrices dans au moins 17 d'entre eux, un chiffre probablement encore aujourd'hui en évolution (Ruesink et al., 2005; Bayne, 2017). Parfois, l'introduction a pu se faire par inadvertance, comme en Nouvelle-Zélande, où l'installation de

*C. gigas* provient probablement du biofouling des coques de navires qui l'ont transportée et disséminée (Dinamani, 1971). Dans d'autres cas comme en France, elle a volontairement été amenée pour sauver la profession ostréicole et les bénéfices économiques qui en dépendent. Mais cela lui a permis de proliférer sur les côtes européennes jusqu'à la mer de Wadden. Par le biais des changements globaux, *C. gigas* est capable d'envahir des milieux à des latitudes de plus en plus hautes (Thomas et al., 2016).

Dans d'autres cas, les introductions ont été vivement encouragées car il était suggéré que les températures locales, bien que permettant la croissance, ne permettraient pas la reproduction de cette espèce et empêcheraient ainsi l'établissement de populations autonomes (Melo et al., 2010). Mais l'huître du Pacifique s'est avérée plus tolérante à ces extrêmes environnementaux que ce qui était originellement pensé, ce qui lui vaut aujourd'hui d'être considérée comme invasive dans beaucoup de milieux, car elle s'est étendue bien au-delà de son aire d'introduction. La caractérisation du génome de *C. gigas* a mis en lumière sa grande capacité d'adaptation face à un large spectre de perturbations (Zhang et al., 2012). C'est d'ailleurs aussi une des explications pour laquelle elle constitue l'espèce la plus transloquée au monde en aquaculture, pour sa croissance et sa maturation rapides, ainsi que sa large tolérance environnementale (Nell and Perkins, 2005; Miossec et al., 2009; Troost, 2010). Cependant, cette capacité à proliférer n'est pas sans conséquence pour les nouveaux écosystèmes qu'elle fréquente désormais. Quand bien même elle peut fournir de nombreux avantages dans son environnement d'origine, là où elle n'est pas censée vivre, son influence sur la structure des communautés peut s'avérer conséquente et avoir un effet négatif sur la faune et la flore indigène là où elle est envahissante (Markert et al., 2010 ; Troost et al., 2009).

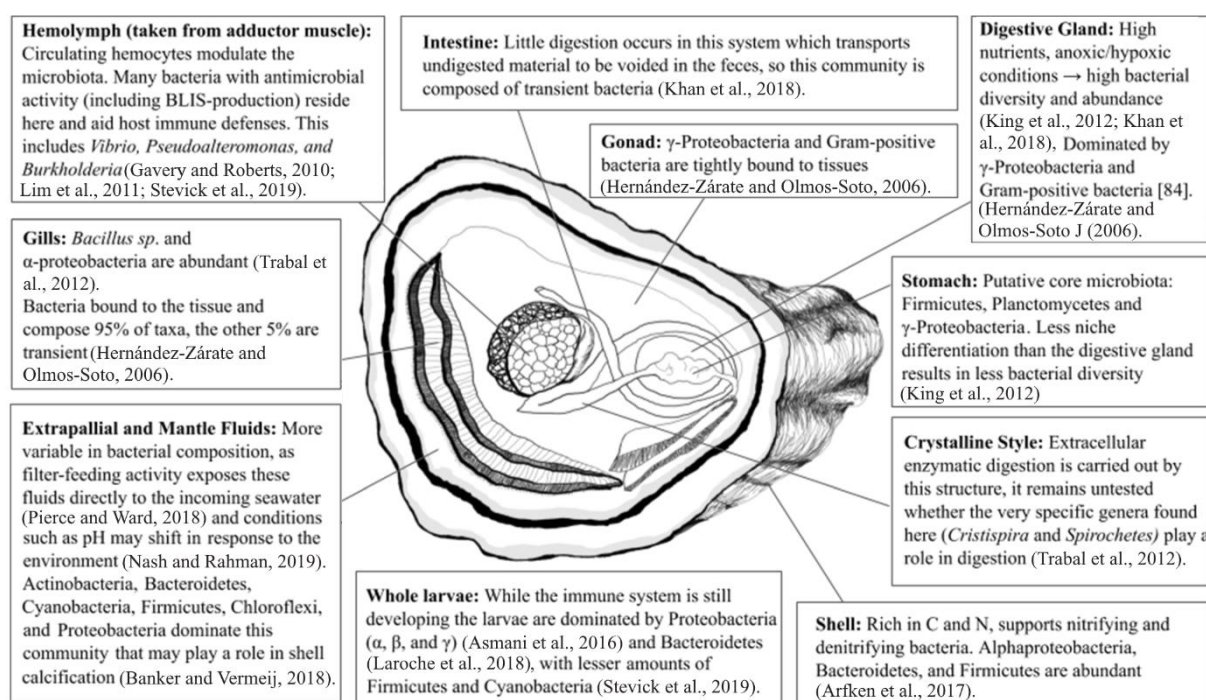
Beaucoup d'espèces sessiles côtières ont un stade de vie planctonique dans leur cycle de développement (Jones et al., 1999), et les filtreurs envahissants peuvent transformer leur distribution et abondance en modifiant les trajectoires de dispersion lors du recrutement (Gribben et al., 2009; Woodford and McIntosh, 2010). Ils peuvent donc avoir un impact sur les communautés en influençant le mode d'installation des larves (Tamburri et al., 2007; Troost et al., 2009). Les courants engendrés par la filtration de groupes de bivalves peuvent conduire à l'ingestion des larves dérivant dans la colonne d'eau (Smaal et al., 2005; Troost, 2010). Lorsque cette activité de filtration des suspensivores l'emporte sur les effets positifs de la complexité de l'habitat conféré par ces mêmes bivalves, il peut donc en résulter une réduction de l'abondance et de la diversité de la flore et de la faune indigènes. Lors de sa prolifération, *C. gigas* entre en compétition pour la nourriture et l'espace de colonisation avec les autres bivalves filtreurs, pouvant engendrer un déclin des populations indigènes (Miossec et al., 2009).

Les invasions biologiques par des espèces non indigènes peuvent provoquer des changements environnementaux de grande ampleur et menacer la biodiversité et les services écosystémiques. Les interactions biotiques peuvent ainsi avoir un rôle clé dans la facilitation ou l'inhibition de la propagation des espèces non indigènes (Kochmann and Crowe, 2014). L'huître creuse du Pacifique est communément trouvée sur les rivages intertidaux avec des substrats durs, mais elle est négativement associée aux macroalgues avec lesquelles elle est en compétition pour l'espace sur ce substrat dur. D'autre part, après son introduction en France, elle s'est vite répandue sur l'ensemble du littoral et a établi des populations sauvages en milieux meubles et rocheux (Lejart and Hily, 2011). La richesse spécifique et l'abondance de macrofaune se sont trouvées modifiées par la présence du bivalve en vasière, et la dominance des suspensivores dans la vase s'est transformée en carnivores dans les récifs

d'huîtres (Lejart and Hily, 2011). Ainsi les proliférations d'huîtres ont la capacité de transformer les habitats, en digne espèce ingénieure, et elle est suspectée de provoquer une homogénéisation des habitats côtiers.

### II.3.3) Microbiote de l'huître creuse

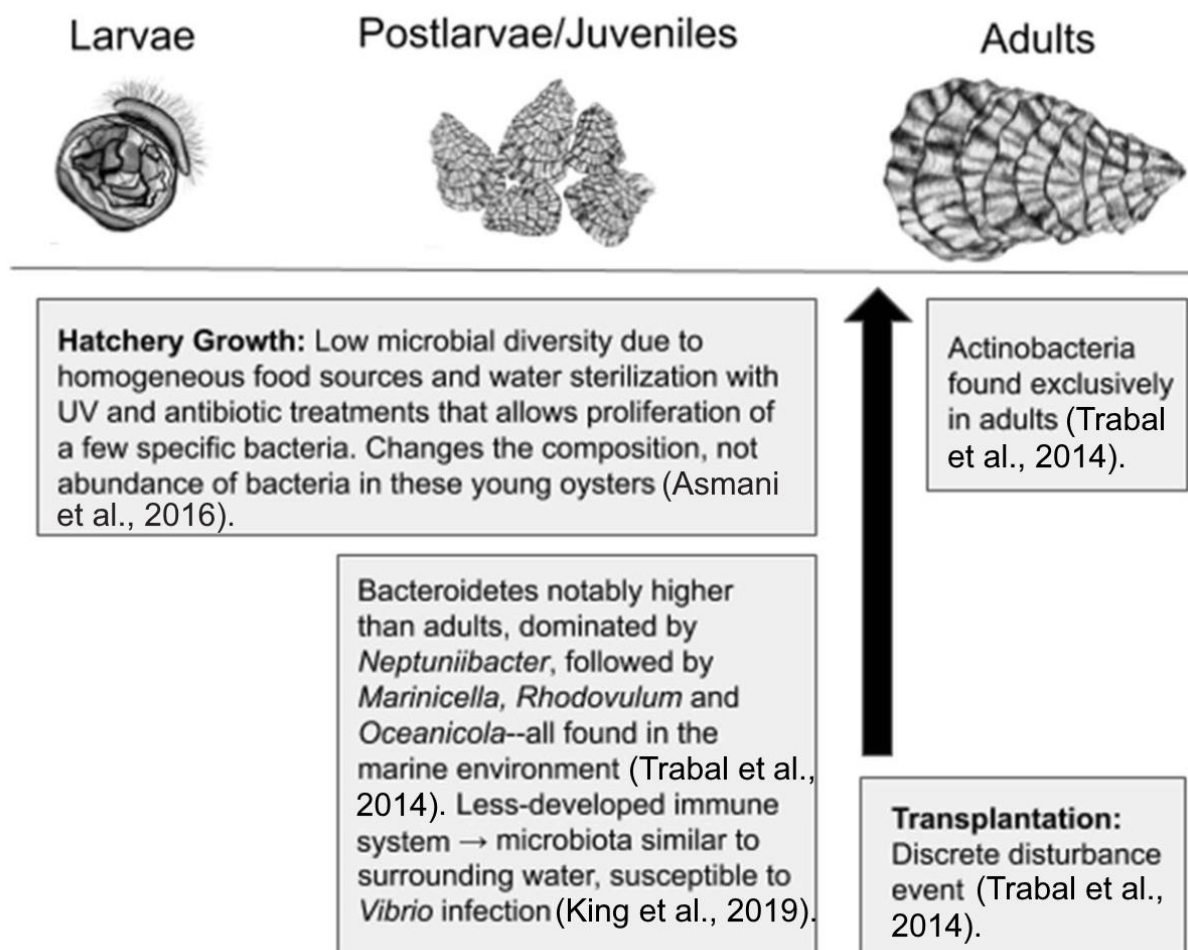
L'huître étant un animal filtreur, son microbiote est très influencé par le milieu extérieur et les conditions de son environnement (King, et al., 2019b). Le microbiome de l'huître change en fonction des tissus (Figure 9), de la situation géographique, du régime alimentaire, de la température, des infections ou de l'utilisation d'antibiotiques (Wegner et al, 2013; Lokmer et al, 2016a; King et al., 2019c; Clerissi et al., 2020). Même au sein du même site, le microbiote d'un individu à l'autre peut connaître une forte variabilité (Wegner et al., 2013; King et al., 2019c).



**Figure 9.** Variation du microbiote de l'huître en fonction des tissus. Représentation anatomique des différentes localisations corporelles de l'huître et des microbiotes qui leur sont typiquement associés. Les facteurs spécifiques aux tissus qui influencent la composition et l'activité du microbiote transitoire et résident sont également notés (Yeh et al., 2020).



Il existe une hétérogénéité substantielle de la composition du microbiome entre les huîtres, qui peut dépendre de la génétique (Wegner et al., 2013). Par ailleurs, il varie aussi, en termes de composition des communautés, en fonction des stades de vie de l'animal et la communauté bactérienne de l'hémolymphe étant la plus variable (King et al., 2012; Lokmer et al., 2016b). Le microbiote associé aux post-larves et aux adultes (Figure 10) semble différer substantiellement en abondance relative, et une plus grande diversité et richesse est évidente chez les post-larves par rapport aux adultes de la même espèce (Trabal Fernández et al., 2014).



**Figure 10.** Evolution du microbiote au cours du développement de l'huître (modifié d'après Yeh et al., 2020).

En contexte de maladie rencontrée par l'huître, le rôle du microbiote dans la défense est encore peu connu, mais beaucoup d'éléments laissent supposer qu'il joue un rôle essentiel

dans l'homéostasie de l'hôte. Les microorganismes associés à l'huître peuvent jouer un rôle important dans l'établissement de maladies. Il a notamment été démontré que son microbiote peut connaître des modifications dans sa composition spécifique, en raison de multiples facteurs de stress (Green and Barnes, 2010; Wegner et al., 2013; Lokmer and Wegner, 2015; Lokmer, et al. 2016a; Lokmer, et al. 2016b; King et al., 2018), de variations saisonnières (Pierce et al., 2016) et de translocation (Lokmer et al., 2016a). La déstabilisation de la communauté bactérienne peut faciliter l'infection, comme cela a été montré pour le genre *Vibrio* (Lokmer et al., 2016a). Des *Vibrionaceae* font partie des bactéries associées à l'huître naturellement, mais en bons opportunistes et en cas de perturbation, elles peuvent devenir virulentes et contribuer à provoquer une infection (Lemire et al., 2015). Les changements dans la communauté *Vibrio* peuvent augmenter la gravité de la maladie, mais il n'est pas clair si l'ensemble de la communauté microbienne, lorsqu'elle est stressée, joue un rôle protectif contre la maladie ou favorise sa progression (Lemire et al., 2015; Tout et al., 2015). Ces découvertes soulèvent des perspectives concernant le rôle potentiel du microbiome dans la résistance ou la sensibilité aux maladies. Des études en ce sens ont montré que certains microorganismes sont spécifiquement associés aux huîtres résistantes ou sensibles aux pathogènes, en étudiant les différences de communautés chez des familles résistantes et des familles sensibles aux stades précoces d'une infection (Clerissi et al., 2020). Des paramètres comme l'abondance et l'équitabilité spécifiques des communautés microbiotiques varient entre huîtres sensibles et huîtres résistantes. *C. gigas* héberge donc différentes structures d'assemblage microbien en fonction de sa sensibilité aux maladies, suggérant un microbiote caractéristique qui pourrait prédire les mortalités (King et al., 2019a; King et al., 2019b; Clerissi et al., 2020).

Une autre étude a également montré qu'une exposition à une flore microbienne diversifiée au cours du développement embryonnaire permet d'améliorer le taux de résistance des huîtres exposées grâce à un effet immunomodulateur (Fallet, 2019). Des travaux ont aussi montré que des mécanismes épigénétiques (influence de l'environnement sur le phénotype des organismes) peuvent moduler l'interaction entre le microbiote et le système immunitaire de l'hôte, en s'impliquant dans l'effet mémoire à long terme exercé par ce microbiote sur l'homéostasie de l'hôte (Pan et al., 2018; Miro-Blanch and Yanes, 2019).

#### II.4. Epizooties rencontrées par l'huître creuse

##### II.4.1) *Mortalités estivales rapportées dans la dernière décennie*

Les maladies infectieuses impactent les activités aquacoles et ont des répercussions sur l'économie qui se calculent en milliards de dollars chaque année. Elles concernent tous types de cultures, aussi bien les concessions ostréicoles que les fermes de crevettes, d'ormeaux et de poissons (Lafferty et al., 2015). La conchyliculture rassemble des activités socio-économiques particulièrement vulnérables à une augmentation de la fréquence des maladies. En particulier, l'histoire de l'ostréiculture mondiale a été ponctuée d'épizooties (MacKenzie and Clyde, 1996; Gouletquer and Heral, 1997; Nell, 2001; Buestel et al., 2009; Troost, 2010). En ce qui concerne *C. gigas*, elle est, depuis son introduction, affectée par des phénomènes de mortalités massives survenant à différents stades de son développement, principalement pendant les mois les plus chauds de l'année, ce qui leur vaut la qualification de « mortalités estivales ». Ces évènements ont été rapportés depuis quelques décennies, partout où cette espèce est cultivée (Samain and McCombie, 2008). L'origine de ces mortalités est multifactorielle et peut être liée à des facteurs de risque identifiés. Ces facteurs de risques sont, par exemple, la température, la maturité sexuelle de l'huître, la prédisposition génétique à la sensibilité, la présence d'agents pathogènes, ou encore des conditions environnementales

stressantes comme la pollution chimique ou les variations abiotiques comme la salinité (Samain and McCombie, 2008; Fuhrmann et al., 2016). Durant l'été 2008, des mortalités d'huîtres âgées d'un an et moins se sont produites sur toutes les côtes françaises (Miossec et al., 2009), décimant parfois de 80% à 100% des jeunes huîtres dans les exploitations (Solomieu et al., 2015). Depuis ces premières mortalités estivales, les jeunes huîtres meurent massivement chaque année. Ce phénomène est caractérisé par le syndrome de mortalité massive des huîtres du Pacifique<sup>4</sup> et il se manifeste dans d'autres pays européens (Peeler et al., 2012; Roque et al., 2012; Clegg et al., 2014), mais aussi en Australie et Nouvelle-Zélande (Jenkins et al., 2013; Paul-Pont, et al., 2013b; Keeling et al., 2014; Paul-Pont et al., 2014). Il est donc important d'établir une surveillance efficace des épizooties et d'identifier les facteurs de risque environnementaux qui favorisent l'émergence de maladies (Groner et al., 2016; Pernet et al., 2016).

Vivant fixées, dans un milieu ouvert, les huîtres sont largement exposées à de nombreux agents pathogènes. Plusieurs d'entre eux ont été isolés à de nombreuses reprises à partir d'huîtres récoltées lors d'épisodes de mortalités (Garnier, et al., 2008; Lemire et al., 2015; Petton et al., 2015b). Parmi les pathogènes les plus connus de l'huître, on trouve des parasites du genre *Haplosporidium*, tel que *Haplosporidium costale* ou encore des bactéries du genre *Vibrio*, telles que *V. splendidus*, *V. aestuarianus*, *V. tubiashii* ou *V. Crassostrae*. Mais l'origine des mortalités estivales devenues annuelles est imputée à l'émergence d'un variant de l'ostreid herpesvirus 1, nommé OsHV-1  $\mu$ var (Segarra et al., 2010).

---

<sup>4</sup> Pacific Oyster Mortality Syndrome (POMS) (de Lorgeril et al., 2018; Paul-Pont et al., 2013a).

## II.4.2) Le cas de l'ostreid herpesvirus OsHV-1

### II.4.2)a. OsHV-1 dans le monde

La détection d'un virus de type herpès a été faite pour la première fois en 1972 aux USA et a été associée aux mortalités d'huîtres adultes *Crassostrea virginica* (Farley et al., 1972). Par la suite, des virus similaires ont été identifiés en France lors de mortalités importantes de larves et de naissains, à partir des années 1991 (Nicolas et al., 1992; Renault and Novoa, 2004). En 1995, un virus est isolé à partir d'un lot de larves infectées provenant d'écloseries françaises (Le Deuff and Renault, 1999) et le génome est séquencé (Davison et al., 2005). Par ses caractéristiques structurales et génomiques, le virus est alors classé dans l'ordre des Herpesvirales et dans la famille des Malacoherpesviridae, et nommé ostreid herpesvirus 1 (Davison, 2002; Davison et al., 2005).

Le génome viral est constitué de 207 kpb et de 124 ORFs (Davison et al. 2005). Un fragment long (UL) de 167.8 kpb et un fragment court (US) de 3.4 kpb sont deux régions uniques, encadrées par des séquences répétées inversées. Le fragment long est encadré de séquences identiques de 7.6 kpb aux extrémités terminales (TRL) et interne (IRL). Le fragment court, lui, est encadré par deux séquences de 9.8 kpb, une terminale (TRS) et l'autre interne (IRS). Enfin, une séquence (X) de 1.5 kpb se trouve entre les séquences IRL et IRS (Figure 11).

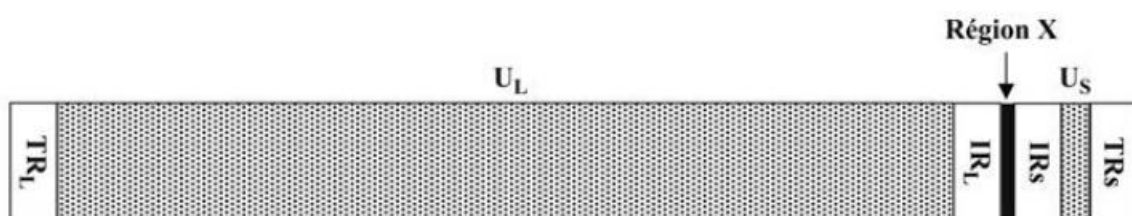


Figure 11. Organisation du génome viral d'OsHV-1 (modifié d'après Martenot, 2013).

Le virus OsHV-1 et ses variants ont été observés dans de nombreuses régions du monde (Martenot et al., 2013) (Figure 12).

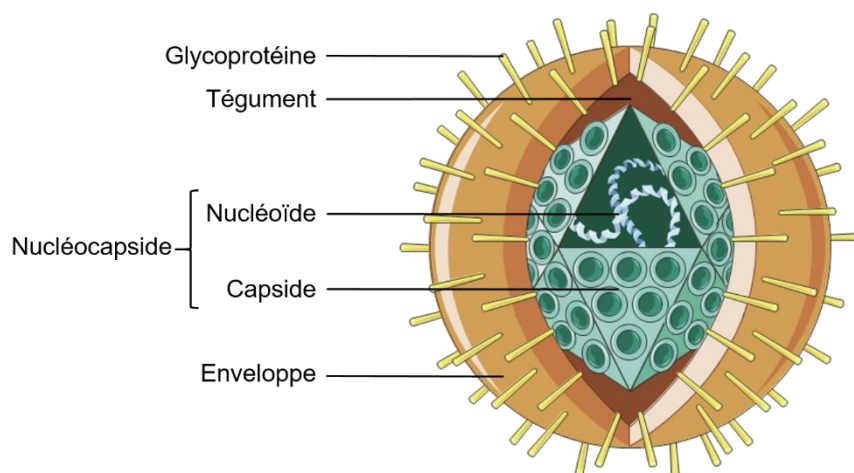


et al., 2011; Domeneghetti et al., 2014), mais aussi en Irlande (Lynch et al., 2012; Peeler et al., 2012; Clegg et al., 2014; Morrissey et al., 2015), la Grande-Bretagne (EFSA, 2010; Lynch et al., 2012) les Pays-Bas et la Scandinavie (Gittenberger et al., 2016; Mortensen et al., 2016). La souche  $\mu$ Var est également distribuée en Océanie avec des variants du virus présents en Australie (Jenkins et al., 2013; Paul-Pont et al., 2013a; Paul-Pont et al., 2013b; Paul-Pont et al., 2014), en Nouvelle-Zélande (Keeling et al., 2014) et en Asie (Hwang et al., 2013). Ainsi, OsHV-1  $\mu$ Var, qui est actuellement distribué globalement, s'avère être un agent pathogène très problématique pour la production d'huîtres du Pacifique dans le monde entier (EFSA, 2015).

#### *II.4.2)b. Description et mode de fonctionnement*

La structure d'OsHV-1 est caractéristique des virus enveloppés. Ils comportent une enveloppe, renfermant une capsid, elle-même abritant le génome viral. Cette organisation permet de protéger l'ADN viral durant les phases extracellulaires du cycle du virion, lorsque celui-ci n'a pas encore infecté de cellule hôte pour s'y multiplier et former d'autres particules virales en utilisant la machinerie cellulaire.

Les herpesvirus correspondent à une catégorie de virus enveloppé. Leur enveloppe est composée d'une bicouche lipidique, formée en partie des membranes cellulaires de l'hôte infecté à partir desquelles le virus s'est multiplié par bourgeonnement pour proliférer en plusieurs particules virales. Elle comporte donc des protéines originaires de l'hôte, en plus de ses protéines virales et celles-ci sont impliquées dans les interactions avec les récepteurs cellulaires de l'huître. En dessous de cette membrane se trouve une matrice (tégument) constituée de protéines virales qui stabilise l'enveloppe virale (Figure 13).



**Figure 13.** Structure d'une particule virale de type herpesvirus (modifié d'après la Banque d'images SMART) ©SERVIER.

La capsidite<sup>6</sup> est structurée par un assemblage de protéines codées par le génome viral. Il existe plusieurs types de structure de capsidite et celle des herpesvirus possède une symétrie icosaédrique, une forme régulière et qui a pour faces des triangles équilatéraux (Davison et al., 2005). Cette forme polyédrique est obtenue par l'agencement de capsomères qui se composent de sous unités protéiques assemblées par groupes de cinq et que l'on nomme les « pentons » (forme convexe et situés aux niveaux des sommets) ou par groupes de six, appelés les hexons (forme plane localisée sur les faces et les arêtes de l'isocaèdre) (Figure 13).

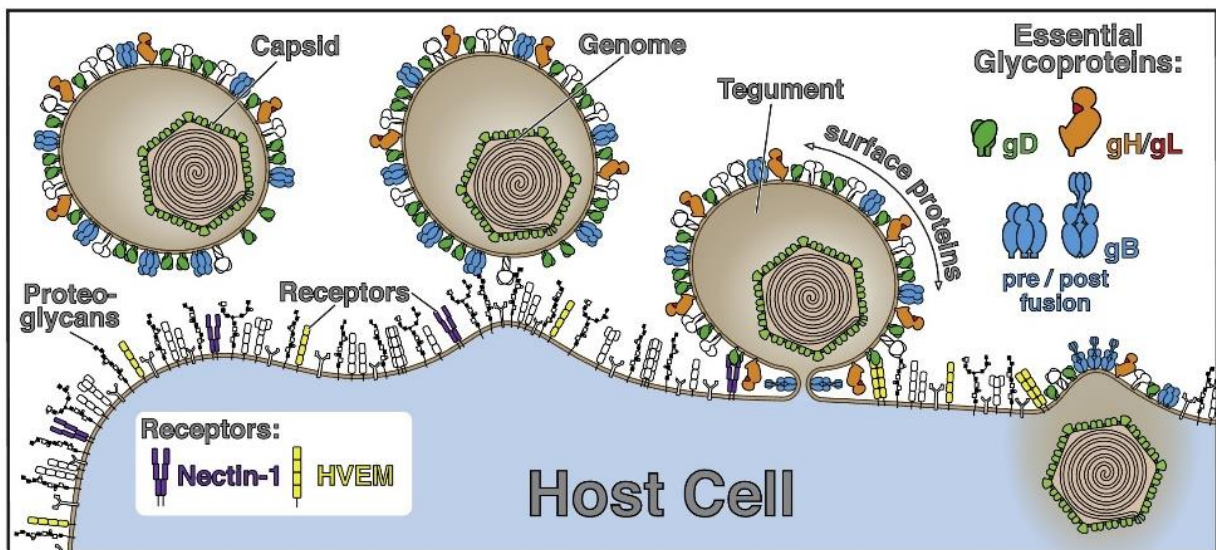
Les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires. À ce titre, ils peuvent uniquement se multiplier via l'utilisation de la machinerie cellulaire de leurs hôtes. La réplication virale a lieu au cœur de la cellule et les particules virales doivent donc impérativement y pénétrer. Dans une cellule dite permissive, la réplication virale s'organise en plusieurs étapes successives.

Il y a tout d'abord reconnaissance et attachement du virion sur la cellule hôte. L'attachement du virus à la surface cellulaire se fait généralement par interaction directe des récepteurs de la surface cellulaire avec les protéines de la membrane virale. Cette première étape permet à

<sup>6</sup> Du latin « *capsa* » qui signifie boîte.



l'agent pathogène de s'ancrer à la membrane de l'hôte. Puis en association avec d'autres signaux cellulaires, comme l'abaissement du pH dû à l'endocytose, elle déclenche l'activation de la protéine de fusion dédiée. Les virus de la famille des herpesvirus répartissent ces mécanismes sur un grand nombre de glycoprotéines différentes (Vollmer and Grünewald, 2020). Dans le cas du virus herpes simplex 1 (HSV-1), il s'agit de quatre glycoprotéines différentes (gD, gH, gL et gB) (Figure 14).

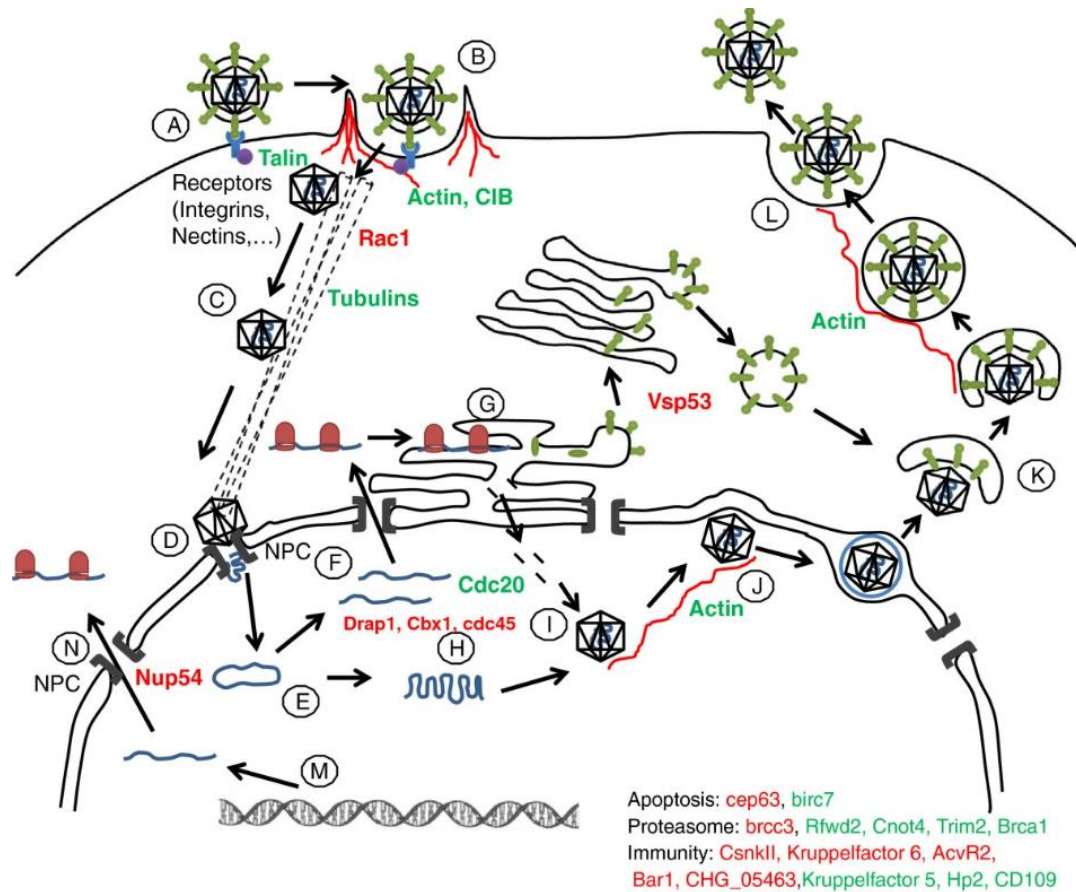


**Figure 14.** Mécanismes mis en place par HSV-1 pour son introduction dans la cellule hôte et la fusion des membranes (Vollmer and Grünewald, 2020).

Des études de mutants ont démontré l'importance de ces protéines grâce à des virions dépourvus de l'une des quatre glycoprotéines, qui ne parviennent pas à infecter les cellules (Cai et al., 1988; Ligas and Johnson, 1988; Forrester et al., 1992; Roop et al., 1993; Davis-Poynter et al., 1994). Par ailleurs, le HSV-1 a la capacité de se propager de cellule en cellule par une fusion de la membrane plasmique avec les cellules voisines non infectées, ce qui entraîne la formation de plaques (Vollmer and Grünewald, 2020). Chez certaines souches, cette caractéristique est renforcée et permet une fusion cellulaire étendue, processus qui dépend également de ces quatre glycoprotéines (Davis-Poynter et al., 1994). Ces protéines ne partagent aucune similitude structurelle. Pendant la fusion, chaque protéine doit donc avoir

un rôle spécifique et être responsable d'un aspect distinct du processus, pour former ensemble un mécanisme de fusion à plusieurs composants (Vollmer and Grünewald, 2020).

Une fois la particule virale attachée, elle assure l'entrée dans la cellule par la fusion avec sa membrane, pour libérer la capsid virale dans le cytoplasme de la cellule hôte. S'ensuit la libération du génome viral par décapsidation, qui va profiter des organites cellulaires pour se répliquer et en parallèle transcrire ses gènes viraux, puis traduire ses ARN messagers viraux pour biosynthétiser ses protéines virales qui vont maturer. Les protéines de nucléocapsides ainsi traduites vont être assemblées pour reconstituer une nouvelle capsid et encapsider les particules virales produites. Une fois la maturation des virions néoformés achevée, ceux-ci sont libérés hors de la cellule hôte par bourgeonnement (Jouaux et al., 2013; Pasquier et al., 2013; Segarra et al., 2016) (Figure 15).



**Figure 15.** Schéma d'une infection virale et des processus mis en place pour la réplication des particules pathogènes au sein de la cellule hôte (Jouaux et al., 2013).

Des analyses réalisées par microscopie et qPCR ont permis de voir que l'entrée du virus dans les cellules est très rapide au moment de l'infection et que la réplication virale est induite immédiatement dans les hémocytes de l'huître ciblés par OsHV-1 pour l'initiation de la transcription. Ces mécanismes surviennent dès la première heure après une injection de suspension virale dans les expériences (Martenot et al., 2017; Morga et al., 2017). En outre, deux heures après le début de l'infection par injection, des protéines membranaires et des inhibiteurs d'apoptose ont été mis en évidence, par des approches de transcriptomiques et d'immunohistochimie, sur des coupes d'huîtres infectées par injection, dans les branchies, le manteau et la glande digestive. Ces protéines membranaires sont codées par les ORFs 25 et 72 (Morga et al., 2017) et les inhibiteurs d'apoptose sont codés par les ORFs 42, 87, 99 et 106

(Segarra et al., 2014a). L'expression précoce de ces gènes viraux suggère qu'OsHV-1 module les processus apoptotiques de l'hôte (Jouaux et al., 2013; Martenot et al., 2017; Segarra et al., 2014a). OsHV-1 est entre autre capable de moduler le métabolisme énergétique de l'huître dès sa réplication, car celle-ci implique une reprogrammation métabolique de la cellule hôte, ce qui permet de maximiser la production d'énergie et la synthèse de nouveau matériel cellulaire afin d'optimiser la synthèse de virions (Corporeau et al., 2014; Young et al., 2017). La plupart des gènes viraux sont traduits dès 18 heures après infection (Segarra et al., 2014a), et des protéines virales sont détectées dans la majorité des tissus de l'huître 28h après infection, excepté dans les gonades (Martenot et al., 2016).

Les premières mortalités liées à l'infection de jeunes huîtres creuses âgées de moins d'un an par OsHV-1 occurrent entre 72h et 96h. L'infection induit un ralentissement de l'activité d'alimentation et de nutrition. Des lésions ont été mises en évidence au niveau des tissus conjonctifs et des noyaux par des approches histologiques, qui ont révélé des modifications nucléaires, de l'hypertrophie ou encore de la pycnose (cellule dont le noyau apparaît réduit et très compact, témoignant d'une nécrose cellulaire) associée à de l'apoptose (Arzul et al., 2017; Hine et al., 1992; Nicolas et al., 1992).

#### *II.4.2)c. Mécanismes de défense mis en place par l'huître*

L'huître est, par son activité de filtration de l'eau de mer, continuellement exposée aux microorganismes naturellement présents dans l'environnement marin. Ainsi, la capacité à contrôler la microflore qu'elle ingère et à surmonter les infections est essentielle à sa survie (Schmitt et al., 2010). Pour se défendre des éventuelles agressions extérieures, l'huître possède des barrières physiques et chimiques via sa coquille, le mucus qu'elle sécrète et des barrières épithéliales inhérentes à son manteau. Le mucus recouvrant les organes des bivalves

constitue un véritable bouclier doté de procédés antimicrobiens tels que des agglutinines fonctionnant comme pièges à particules, ainsi que des enzymes hydrolytiques comme les lysosomes et les protéases, qui contribuent à la protection de l'hôte par élimination des usurpateurs (Allam and Raftos, 2015). Mais au-delà de cette protection, l'huître creuse possède aussi une immunité complexe, la rendant capable de réagir à de nombreux agents pathogènes mais aussi aux stress environnementaux.

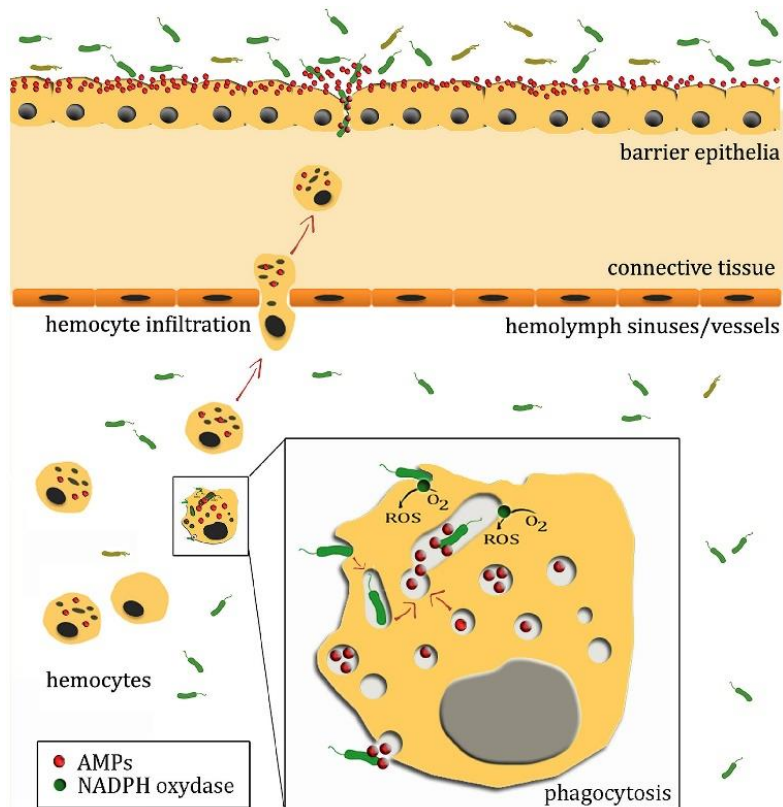
L'immunité correspond à la capacité d'un organisme à enclencher une résistance aux maladies infectieuses. Tous les mécanismes que mettra en œuvre un organisme pour résister aux infections, dans une réaction coordonnée, constituent le système immunitaire.

L'huître ne possède pas de système immunitaire adaptatif avec un mécanisme de mémoire, qui lui permettraient d'acquérir la reconnaissance d'un agent infectieux pour le neutraliser immédiatement dès la détection. Comme pour tous les invertébrés, les défenses reposent sur le système immunitaire inné. L'immunité innée est plus rapide et moins spécifique que l'immunité acquise, qui elle est plus lente et qui cible un agent pathogène spécifique avec grande efficacité et en impliquant la mémoire immunitaire (Abbas et al., 2016). Elle permet ainsi de limiter l'entrée des agents pathogènes et de détruire ceux qui parviennent à pénétrer dans l'organisme.

Le système immunitaire inné fait intervenir des cellules dites immunocompétentes. Chez l'huître, ces cellules sont des hémocytes qui circulent dans son hémolymphe. Deux types de réponses peuvent être déclenchés pour combattre un agent infectieux infiltré dans le corps de l'hôte. D'une part, c'est une réponse à médiation cellulaire qui peut subvenir. D'autre part, une réponse humorale peut s'enclencher, effectuée par des facteurs humoraux présents dans la partie plasmique de l'hémolymphe, et dont les agents effecteurs sont des protéines solubles du milieu intérieur.

- *Réponse à médiation cellulaire*

Cette réponse du système immunitaire inné repose sur la capacité de phagocytose de l'agent pathogène par les hémocytes de l'huître, sa défense primaire (Schmitt et al., 2012b). Lorsqu'elle est soumise à une attaque infectieuse, les hémocytes migrent vers la zone infectée, ce qui donne lieu à une augmentation de leur concentration dans l'hémolymphe (Allam and Raftos, 2015). On parle alors d'infiltration hémocytaire, dès lors que le nombre d'hémocytes dans le système circulatoire augmente (Allam and Raftos, 2015). Les hémocytes s'agrègent entre eux pour limiter l'étendue de la lésion ou de l'infection. Leur activité de migration semble différentielle en fonction des types de bactéries rencontrées (Kumazawa and Morimoto, 1992; Zannella et al., 2017). Au niveau du pathogène a lieu la phagocytose (Anderson, 1994; Renault et al., 2000), en commençant par la reconnaissance et la fixation de l'hémocyte au corps étranger. L'attachement est suivie d'une extension de la membrane plasmique autour du pathogène, c'est l'internalisation par endocytose. La membrane entoure toute la particule pour former une vésicule membranaire appelée phagosome, qui fusionne ensuite avec des lysosomes pour devenir un phagolysosome (Figure 16).



**Figure 16.** Réponse immunitaire cellulaire de l'huître (Schmitt et al., 2012c). Les agents pathogènes envahissants contournent la couche épithéliale, qui produit des peptides antimicrobiens<sup>7</sup> (AMP; point rouge), puis les hémocytes circulants dans l'hémolymphe les englobent. Ils sont alors exposés à des espèces réactives de l'oxygène<sup>7</sup> (ROS), produites soit par la NADPH oxydase (point vert), soit par les mitochondries, et à des protéines antimicrobiennes telles que le lysozyme et les AMP (King et al., 2019b).

Des enzymes lysosomales contenues dans ce phagolysosome vont produire des substances toxiques, comme des espèces réactives de l'oxygène (ERO)<sup>8</sup>, et des espèces réactives de l'azote (ERA)<sup>9</sup>, qui vont dégrader l'agent pathogène (Soudant et al., 2013). Les EROs ont un rôle physiologique dans la défense antimicrobienne, qui fait intervenir trois systèmes enzymatiques pour la formation d'ERO et d'ERA, la bactéricidie étant dépendante de l'oxygène (Stasia, 2007). Les ERAs, eux, sont très importants pour la lyse des bactéries et des parasites intracellulaires (Migdal and Serres, 2011). Juste après la phagocytose du pathogène, les

<sup>7</sup> "Anti Microbial Peptid" (AMP), terme anglais équivalent de PAM.

<sup>8</sup> "Reactive Oxygen Species" (ROS), terme anglais équivalent de ERO.

<sup>9</sup> "Reactive Nitrogen Species" (RNS), terme anglais équivalent de ERA.

phagocytes augmentent considérablement leur consommation d'oxygène et passent d'un état quiescent à un état activé (Migdal and Serres, 2011). Toutes ces EROs et ERAs interagissent alors les unes avec les autres afin de détruire le pathogène, ce qui se traduit par une explosion oxydative (Migdal and Serres, 2011).

Si le corps étranger est de taille trop importante, il est internalisé par encapsulation plutôt que de subir une phagocytose classique. La capsule, établie par des hémocytes différenciés, constitue une couche cellulaire qui entoure le pathogène (Montes et al., 1995; Smolowitz et al., 1998).

Un autre moyen de lutte contre une infection virale est le déclenchement de l'apoptose, la mort cellulaire programmée. Elle permet en effet de réguler la destinée cellulaire aussi bien dans un contexte physiologique habituel que dans un contexte pathologique, afin d'éliminer les cellules indésirables telles que les cellules tumorales, les cellules présentant des dommages irréversibles de l'ADN ou infectées par un virus. Elle se déclenche donc lors d'un stress génotoxique ou un stress oxydatif. L'apoptose a une grande importance dans le fonctionnement immunitaire des mollusques en limitant la propagation de l'agent pathogène et les dommages inflammatoires des tissus (He et al., 2015; Martenot et al., 2017; Wang et al., 2018). La voie intrinsèque de l'apoptose est mitochondriale, modulée par une signalisation extracellulaire et intracellulaire. C'est à partir de la libération du cytochrome C qu'elle est activée. Cette libération est contrôlée par de nombreux gènes. Il a d'ailleurs été montré que certains inhibiteurs de l'apoptose sont surexprimés chez des huîtres sensibles en réponse à une infection par OsHV-1 (de Lorgeril et al., 2018), ce qui n'est pas en faveur de l'huître pour se débarrasser du pathogène de cette façon.



L'autophagie est un autre processus de la mort cellulaire programmée qui permet de maintenir l'homéostasie de la cellule et de renouveler des organites cytoplasmiques. Ce processus est également impliqué dans les mécanismes de l'immunité innée et peut induire une dégradation enzymatique sur des cibles sélectionnées. Chez *C. gigas*, l'autophagie est induite en réponse à l'infection par OsHV-1 et semble avoir un effet protecteur sur l'hôte (Moreau et al., 2015).

- *Réponse à médiation humorale*

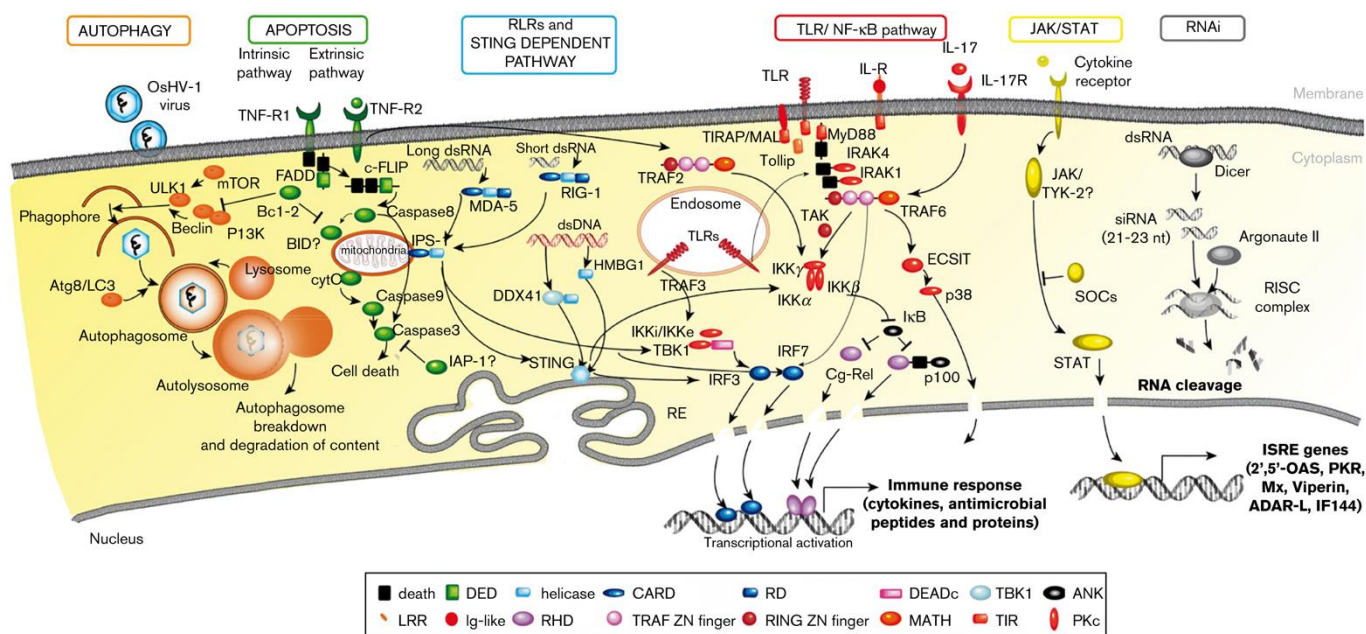
En ce qui concerne la réponse immunitaire innée à médiation humorale, elle fonctionne par reconnaissance de motifs moléculaires spécifiquement associés aux agents pathogènes ou bien à des motifs moléculaires associés aux lésions. Ces patterns moléculaires sont appelés PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Pattern) et DAMPs (Damage-Associated Molecular Pattern). Des récepteurs PRR (pour Pattern Recognition Receptor) présentent des spécificités pour les motifs reconnus et induisent l'expression d'effecteurs antimicrobiens par l'activation de voies de signalisation intracellulaires (Abbas et al., 2016).

Parmi eux, les interférons sont une classe de cytokines qu'induisent les cellules dans un état antiviral (Randall and Goodbourn, 2008). Les cellules infectées par un virus sécrètent ces interférons pour alerter les autres cellules du corps de la présence d'un virus (Robertsen, 2006). Le génome de l'huître code de nombreux gènes de stimulation de ces interférons, ISGs (Interferon-Stimulated Genes), y compris la vipérine, une protéine antivirale bien décrite (Renault et al., 2011; Rosani et al., 2015; Wang et al., 2018; Green et al., 2015b).

Dans un premier temps, l'expression des cytokines et des peptides antimicrobiens se fait par des voies de signalisations qui activent des gènes codant pour des senseurs d'acides nucléiques viraux, surexprimés lors d'une infection par OsHV-1 (Green et al., 2015a; Wang et

al., 2018), comme ceux de la famille des TLR (Toll like Receptors) (Fleury and Huvet, 2012; Zhang et al., 2015) et des RLR (Retinoic acid-Inducible Gene-like receptors). Ces récepteurs sont activés par la présence d'ARNs viraux présents dans le cytosol et enclenchent différentes voies de signalisation (Figure 17), qui sont déterminées par des gènes bien identifiés chez l'huître creuse (Fleury and Huvet, 2012; Green and Montagnani, 2013; Guo et al., 2015; Green et al., 2015a ; He et al., 2015; Rosani et al., 2015).

Une fois les cytokines synthétisées, elles peuvent se lier aux récepteurs des cellules et induire la voie de signalisation qui aboutit à l'expression des ISGs (Figure 17), dont les protéines intervenantes ont été identifiées chez *C. gigas* (Green et al., 2015a; He et al., 2015; Rosani et al., 2015).



**Figure 17.** Réponses antivirales chez l'huître creuse déduites à partir de séquences identifiées dans le génome de *C. gigas* et des systèmes antiviraux connus des insectes et des vertébrés. TIR, Toll/IL1 receptor; Ig, immunoglobulin; DD, death domain; LRR, leucine rich repeat; TM, transmembrane; PKc, protein kinase c; RHD, rel homology domain; IPT, immunoglobulin-like fold; RING, RING-finger (really interesting new gene) domain; zf-TRAF, TRAF type zinc finger; MAT, meprin and TRAF-C homology domain; UBL-TBK1-like, ubiquitin-like domain of human Tbk1 and similar proteins (Green et al., 2015).

Ces découvertes soutiennent l'idée d'un type d'interféron ancien existant dans les ancêtres commun des Metazoa, car il a longtemps été pensé que les invertébrés ne possédaient pas la voie IFN, étant absente dans la plupart des organismes modèles non-vertébrés (Green et al., 2015b). Chez *C. gigas*, la vipérine, dont l'expression est induite via une cytokine par un ARN viral double brins non spécifique, a une activité antivirale directe (Green et al., 2015b).

Une autre forme de réponse chez l'huître creuse peut être la synthèse d'enzymes hydrolytiques dans les cellules de l'hémolymphe qui contribuent à la dégradation des pathogènes (Xue and Renault, 2000), comme les phosphatases alcalines et les lysozymes (Itoh et al., 2007; Wang et al., 2018).

D'autre part, pour limiter le stress oxydatif causé par la production d'EROs lors du métabolisme aérobie, des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion-S-transférase (GST) peuvent être formées. Elles permettent de détoxifier les cellules des EROs résiduelles, qui peuvent causer des dommages au niveau de macromolécules essentielles au fonctionnement cellulaire comme l'ADN, des protéines clefs, ou encore des lipides (Storey, 1996; Migdal and Serres, 2011). Cependant, ces EROs, en interagissant avec les ERAs, provoquent la destruction d'un pathogène, donnant lieu à une explosion oxydative, et contribuent donc à la lutte contre les pathogènes.

Des protéines sont également catalysées pour intervenir dans la réparation des lésions causées par une infection, telles que les protéines de stress ou HSP (Heat Shock Protein). De récents travaux montrent que les huîtres résistantes à OshV-1 expriment de manière différentielle des gènes immunitaires communs et spécifiques. Entre autres, parmi ces gènes se trouvent des membres de grandes familles multigéniques connues pour être impliquées dans la réponse au stress comme les HSP (de Lorgeril et al., 2020). D'autres travaux

suggéraient déjà auparavant une implication de l'expression des transcrits codants les HSPs dans le processus de l'immunité antivirale, après avoir constaté que celle-ci augmentait en réponse à OsHV-1 (De-la-Re-Vega et al., 2017).

Les pigments biologiques comme la mélanine sont produits par des cascades de réaction qui peuvent aussi être impliqués dans des mécanismes de défense de la réaction immunitaire. Entre autres, le système de synthèse de l'enzyme phénoloxydase, qui est stimulé par un stress cellulaire, intervient pour la mélanisation des pathogènes et des tissus endommagés (Cerenius and Soderhall, 2004; Hellio et al., 2007). Elle est ensuite elle-même régulée de manière très élaborée pour éviter la production de composés hautement toxiques (Cerenius and Soderhall, 2004). Elle est d'abord présente sous forme inactive en pro-phénoloxydase, puis une fois activée, elle catalyse une réaction de conversion de composés phénoliques en mélanine. Ce sont les composés intermédiaires de cette réaction qui sont bactéricides et qui contribuent à la reconnaissance des corps étrangers (Cerenius and Soderhall, 2004). Ces enzymes sont retrouvées dans les hémocytes de *C. gigas* et agissent entre autres sur des bactéries pathogènes (Luna-Acosta et al., 2010). Ce système d'activation est régulé par des inhibiteurs de protéases, pour éviter l'excès de cascades protéolytiques, qui stoppent les enzymes permettant l'entrée des pathogènes dans les cellules (Gueguen et al., 2003; Hellio et al., 2007).

Enfin, plusieurs peptides antimicrobiens ayant une activité antivirale ont été identifiés dans l'hémolymphe de l'huître creuse, dont certains avec une structure de type antibiotiques, qui permet de bloquer la croissance des bactéries (Olicard et al., 2005; Gueguen et al., 2006; Gueguen et al., 2009; Defer et al., 2013). Les modes d'action par lesquels les peptides antimicrobiens tuent les microbes varient (Nguyen et al., 2011) et peuvent différer d'une espèce bactérienne à l'autre (O'Driscoll et al., 2013). La membrane cytoplasmique est une

cible fréquente, mais les peptides peuvent également interférer avec la synthèse de l'ADN et des protéines, le repliement des protéines et la synthèse de la paroi cellulaire (Nguyen et al., 2011). Leur composition en acides aminés, leur caractère amphipathique, leur charge cationique et leur taille leur permettent de s'attacher aux bicouches membranaires bactériennes et de s'y insérer pour former des pores par des mécanismes à barreaux, à tapis ou à pores toroïdaux. Alternativement, ils peuvent pénétrer dans la bactérie pour lier des molécules intracellulaires qui sont essentielles à la vie cellulaire. Quatre groupes de peptides antimicrobiens cationiques ont été mis en évidence chez des Mytilidae : les myticines, les mytilines, les mytimycines et les défensines (Charlet et al., 1996; Mitta et al., 2000a; Mitta et al., 2000b). Un peptide antimicrobien de type défensine a été spécifiquement identifié chez *C. gigas* (Gueguen et al., 2006; Gueguen et al., 2009). Les grandes défensines forment un groupe majoritairement présent chez les mollusques, plus proche des défensines de vertébrés que d'invertébrés, et sont exprimées uniquement dans les hémocytes en suivant un schéma d'expression génique différents de chez les autres invertébrés (Rosa et al., 2011). Il a aussi été démontré que les peptides antimicrobiens d'huître présentent une grande variété de profils d'expression dans les populations d'hémocytes et les tissus. Les défensines d'huître sont exprimées de manière constitutive dans des tissus spécifiques tels que le manteau (Cg-Defm) ou les hémocytes (Cg-Defhs), tandis que l'expression des peptides membrane-actifs (Cg-BPI) est inductible et l'expression de certains riches en proline (Cg-Prp) semblent être régulées à la baisse dans les hémocytes lors de l'infection (Schmitt et al., 2010). La synergie qui existe dans l'activité des peptides antimicrobiens compenserait la faible concentration dans les tissus (Schmitt et al., 2012a). Le comportement migratoire des hémocytes qui expriment ces différents peptides antimicrobiens s'est avéré être impliqué dans la réponse de l'huître à une infection par des bactéries pathogène, dont le genre *Vibrio* (Schmitt et al., 2012a). Chaque

peptide antimicrobien présente des abondances de transcription différentes après infection par une bactérie pathogène à cause de ce comportement et des régulations transcriptionnelles. Le comportement migratoire des hémocytes contribue ainsi à augmenter les défenses de l'huître au niveau des barrières épithéliales où l'organisme est constamment confronté à des microbes (Schmitt et al., 2012a).

#### *II.4.2)d. Changements physiologiques induits par OsHV-1*

Les réserves énergétiques de l'huître creuse sont stockées dans des cellules vésiculeuses sous forme de composés organiques tels que les lipides et les glucides (Deslous-Paoli and Héral, 1988). Les réserves de glucides se répartissent principalement dans la glande digestive, la gonade et la zone environnante du manteau pendant la période d'hivernage (Berthelin et al., 2000). Toutefois, il existe une saisonnalité dans la capacité de stockage de ces réserves et le glucose est polymérisé sous forme de glycogène lorsque le phytoplancton est en faible abondance dans le milieu. Au printemps et en été, les glucides sont mobilisés pour assurer la gamétogenèse. En automne et au début de l'hiver, les réserves sont reconstituées (Berthelin et al., 2000).

Les réserves lipidiques sont quant à elles stockées sous forme de triglycérides, ou triacylglycérols (TAG) qui peuvent fournir de l'adénosine triphosphate (ATP) pour l'énergie cellulaire, après une réaction d'oxydation, ou être incorporés dans les phospholipides (Dalsgaard et al., 2003). Elles varient également en fonction des saisons car elles sont dépendantes de la quantité de phytoplancton et du stade reproducteur des individus (Pazos et al., 1996; Soudant et al., 1999; Delaporte et al., 2006).

Lors d'une infection causée par l'agent pathogène OsHV-1, les huîtres puisent dans leurs réserves de glucides et de lipides pour le coût énergétique de la réponse immunitaire et la

synthèse de molécules induite pour la multiplication des particules virales, lors de leur assemblage dans les cellules (Tamayo et al., 2014). Ainsi, les quantités de glycogène d'une part et de TAG, d'autre part, diminuent. Concernant les lipides et leurs acides gras, ils sont des constituants qui présentent différents niveaux de régulation de l'ingestion à l'incorporation (Couturier et al., 2020). Le ratio TAG/ST est un indicateur de la contribution relative des lipides de la réserve à la structure, les stérols (ST) étant des constituants structurels des membranes cellulaires. Il est donc un proxy de l'état physiologique des organismes marins (Fraser, 1989) associé à la résistance ou la tolérance aux maladies chez les huîtres (Pernet et al., 2018; Pernet et al., 2019). Ainsi, ce ratio évolue dans le cas d'une infection.

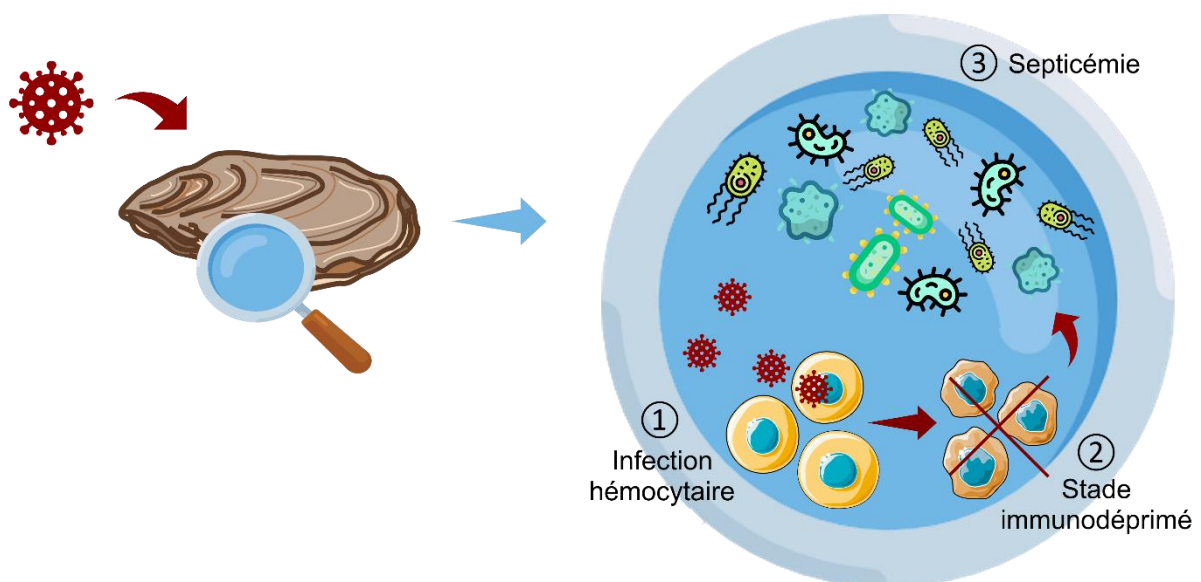
#### *II.4.2)e. Développement de la maladie infectieuse*

En infectant l'huître *C. gigas*, OsHV-1 engendre une succession d'évènements qui caractérisent le cours de la maladie liée à son infection. Il est la principale cause du syndrome de mortalité massive des huîtres du Pacifique (POMS) qui a le potentiel de dévaster les exploitations ostréicoles d'huîtres creuses en causant la mort des jeunes stades (Segarra et al., 2010; Garcia et al., 2011; Pernet et al., 2012; Paul-Pont et al., 2013b; Pernet et al., 2014a; Mineur et al., 2015; Whittington et al., 2015; de Lorgeril et al., 2018). Cette maladie polymicrobienne, devenue panzootique, est d'étiologie complexe et représente une menace pour l'ostréiculture mondiale. Cependant, elle présente toutes les caractéristiques d'un bon modèle pour l'étude des mécanismes d'adaptation rapide à l'émergence de pathogènes.

Récemment, une étude (de Lorgeril et al., 2018) a pu éclaircir l'implication de différents pathogènes dans le déroulement de la maladie, en comparant des huîtres issues de familles sensibles et résistantes à OsHV-1. Dans ce travail, les auteurs ont eu une approche holistique, en s'intéressant aussi bien à l'interaction hôte-pathogène (ici *C. gigas*-OsHV-1) qu'à la

complexité des interactions intervenant dans le processus de la maladie, pour en déchiffrer les étapes.

Les résultats montrent que la maladie est causée par une infection multiple avec une étape initiale et nécessaire d'infection des hémocytes de l'huître par le variant  $\mu$ Var de l'ostreid herpesvirus (Figure 18). OsHV-1  $\mu$ Var cible dans un premier temps ces cellules hémocytaires pour sa réplication virale, qui conduit l'hôte à entrer dans un état d'immunodépression, évoluant vers une septicémie ultérieure causée par des bactéries opportunistes. L'infection virale déstabilise la réponse immunitaire de l'huître vis-à-vis des bactéries induisant une baisse de la synthèse de peptides antimicrobiens. Il en résulte une importante modification du microbiote associé à l'huître, ce qui conduit à la colonisation de l'hôte par des bactéries opportunistes des genres *Vibrio* ou *Arcobacter* et finalement à une bactériémie généralisée qui aboutira à la mort de l'huître (de Lorgeril et al., 2018).

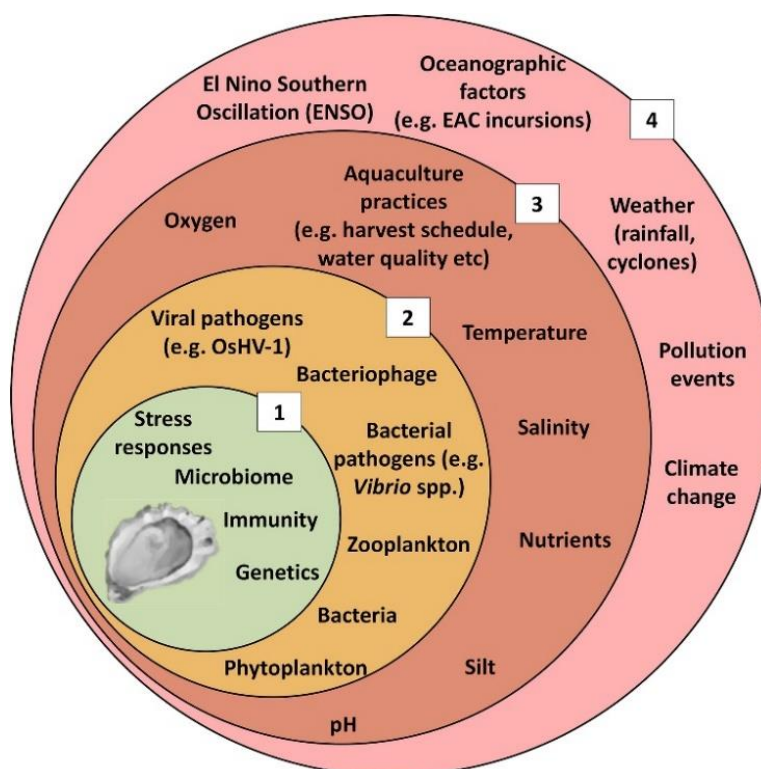


**Figure 18.** Schéma des étapes du processus de la maladie polymicrobienne dans le cas du POMS (syndrome de mortalité de l'huître du Pacifique) décrit dans de Lorgeril et al., 2018 (d'après la Banque d'images SMART ©SERVIER, le site d'icônes ©Flaticon ©Dimitry Miroljubov) ©Elyne Dugény.



## II.5. Facteurs de risques abiotiques sur la maladie de l'huître creuse

L'huître étant un animal filtreur, elle est tributaire de son environnement en termes d'exposition aux agents pathogènes. Ainsi le concept d'« interactome » (Figure 19) se prête bien pour cet organisme qui absorbe de grandes quantités d'eau (King et al., 2019b). C'est assez récemment que des approches holistiques ont vu le jour pour étudier de manière concomitante les effets de l'environnement, des pathogènes et de la physiologie de l'hôte.



**Figure 19.** Proposition de schéma de l'« interactome » concernant les maladies de l'huître. Le plus grand cercle (4) représente les événements environnementaux à grande échelle, qui influencent les paramètres abiotiques (3), ce qui entraîne un effet cascade qui aboutit à influencer les communautés microbiennes et les agents pathogènes (2) qui ensuite peuvent agir sur l'hôte (1) (King et al., 2019b).

Dans l'environnement, la voie de transmission du virus OsHV-1 entre individus est l'eau (Schikorski et al., 2011a; Ika Paul-Pont et al., 2013b; Petton et al., 2013). Les particules virales se transmettent sur une distance qui dépend de la résultante entre l'hydrodynamisme et l'émission virale par des organismes infectés, mais également le temps de persistance du virus en dehors de son hôte (Murray, 2013). Cette catégorie de virus enveloppé s'avère

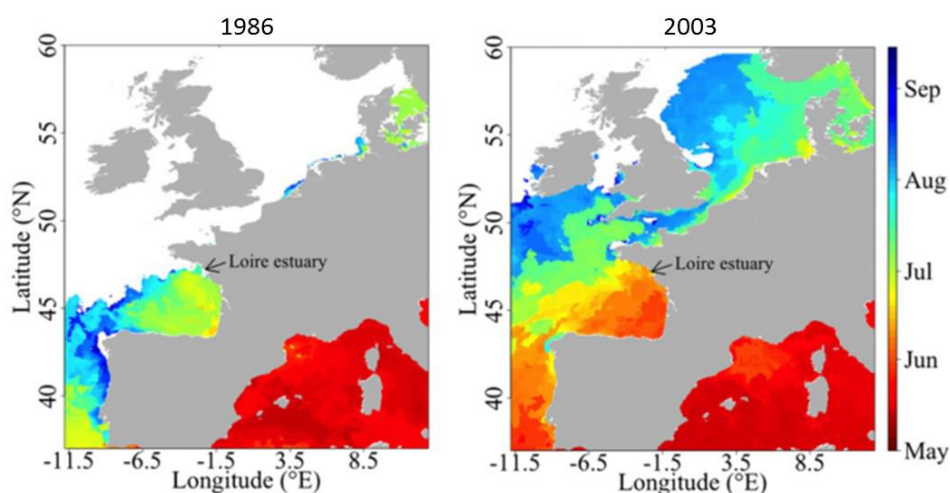
relativement fragile de par la nature lipidique de l'enveloppe (Mojica and Brussaard, 2014). Ainsi, la persistance d'OsHV-1 dans l'eau à 20°C est relativement courte. Elle serait comprise entre 2 et 7 jours selon les travaux de Hick et ses collaborateurs en 2016, dans lesquels ils montrent que le virus reste infectieux dans l'eau et dans les tissus d'huîtres mortes durant ce laps de temps (Hick et al., 2016). Hors de leurs hôtes, les virus sont exposés aux radiations solaires, à des communautés microbiennes et peuvent être adsorbés à des particules en suspension, autant de facteurs qui peuvent influencer leur persistance dans la colonne d'eau (Suttle and Chen, 1992; Munro et al., 2003; Mojica and Brussaard, 2014; Pernet et al., 2015).

Des facteurs intrinsèques de l'huître modulent l'expression de la maladie. Ce sont les huîtres âgées de moins d'un an qui sont plus sensibles à la maladie induite par OsHV-1  $\mu$ var par rapport aux huîtres matures (Pernet et al., 2016). L'hypothèse d'une base génétique de la résistance à la maladie est supportée par quelques études et il existe des familles résistantes à certains pathogènes (Barbosa Solomieu et al. 2015). Par exemple, certains naissains résistants à OsHV-1 sont aussi plus résistants à la bactérie *Vibrio aesturianus* (Azéma et al., 2015). Mais au stade adulte, bien qu'elles ne soient pas affectées par OsHV-1, elles sont davantage sensibles à une infection par *V. aesturianus* (Azéma et al., 2015).

Dans son milieu, l'huître connaît des variations de températures aux écarts importants. A titre d'exemple, des capteurs thermiques endogènes placés dans des naissains d'huître *C. gigas* a permis de montrer que la température endogène de l'huître, en Rade de Brest, pouvait varier de 3.3°C à 39.9°C en période d'exondation en été (Delisle, 2019). Les épisodes de mortalité massive des jeunes huîtres élevées en Europe s'orchestrent lorsque la température de l'eau de mer est comprise entre 16 et 24 °C (Oden et al., 2011; Pernet et al., 2012b; Petton et al., 2013; Renault et al., 2014). La température est donc l'un des facteurs qui modulent la

virulence d'OshV-1 et la transmission de maladies en général (Gagnaire et al., 2006; Petton et al., 2013; Renault et al., 2014; de Kantzow et al., 2016; Delisle et al., 2018b; Delisle, 2019; Delisle et al., 2020). En dessous de 14°C, la mortalité causée par OshV-1 est réduite (Petton et al., 2013; Pernet et al., 2015; de Kantzow et al., 2016). Le virus persisterait à l'état de latence dans les huîtres et se réactiverait lors d'une augmentation de température, ce qui déclencherait la mortalité (Pernet et al., 2015b). Ainsi, l'application de températures basses n'est pas une solution pour limiter la mortalité des huîtres par OshV-1. En outre, la virulence d'OshV-1 est réduite à 25°C en comparaison à 16°C (Martenot et al., 2015). La température élevée induit une réponse de l'hôte au pathogène en induisant des processus physiologiques défavorables à l'infection virale (Delisle, 2019). En effet, la température influence l'expression de transcrits liés au système immunitaire et augmente la transcription de gènes liés au processus apoptotique, aux signaux synaptiques et à la synthèse protéique à 29°C (Delisle et al., 2020). En parallèle, l'expression des gènes associés au catabolisme, au transport des métabolites, à la synthèse des macromolécules et à la croissance cellulaire reste faible au premier stade de l'infection à 29°C. D'autre part, l'entrée du virus dans l'hôte peut être limitée à 29°C par des changements dans la composition de la matrice extracellulaire et l'abondance des protéines (Delisle et al., 2020). De tous les facteurs environnementaux, la température de l'eau de mer joue un rôle déterminant dans le déclenchement des maladies marines. Comme la fièvre chez les vertébrés, une température élevée de l'eau de mer pourrait moduler la réponse de l'hôte aux agents pathogènes chez les animaux ectothermes (Delisle et al., 2020). D'autre part, dans un contexte de changements globaux et notamment le changement climatique, la température connaît des variations qui peuvent induire un décalage des aires de répartition des espèces, bouleversant ainsi l'équilibre des écosystèmes. Pour les huîtres, c'est un décalage des zones de captage qui a été observé. L'expansion vers le Nord de *C. gigas*

est liée au réchauffement climatique et à l'augmentation de l'abondance du phytoplancton (Thomas et al., 2016) (Figure 20). Depuis une vingtaine d'années, les huîtres sauvages prolifèrent sur les côtes atlantiques du nord de l'Europe, sans lien avec de nouvelles introductions et *C. gigas* est considérée comme un espèce invasive de l'Espagne à la mer du Nord (Reise et al., 1998; Wehrmann et al., 2000; Brandt et al., 2008; Dutertre et al., 2010).



**Figure 20.** Modélisation de la distribution spatiale de la date de ponte le long des côtes européennes lors d'une année froide en 1986 et d'une année chaude 2003. Aucune ponte n'a lieu dans les zones blanches (Thomas et al., 2016).

Cependant la température n'est pas l'unique paramètre qui varie avec ce changement climatique. L'accumulation de gaz à effet de serre dans l'atmosphère réchauffe le climat de la planète mais diffuse également dans l'Océan. Entre autres, parmi ces gaz, le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) est particulièrement problématique. On estime que 30 % du  $\text{CO}_2$  émis dans l'atmosphère se dissout dans les eaux de surface, faisant de l'Océan un véritable puits de carbone. Après dissolution, il est transformé en acide carbonique ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) et c'est cette absorption qui a pour conséquence la diminution du pH de l'océan (Sabine et al., 2004), en déplaçant l'équilibre des ions carbonates ( $\text{CaCO}_3$ ) et en favorisant la concentration en ions  $\text{H}^+$ . Lorsque la concentration en ions carbonate diminue, la capacité de l'océan à absorber

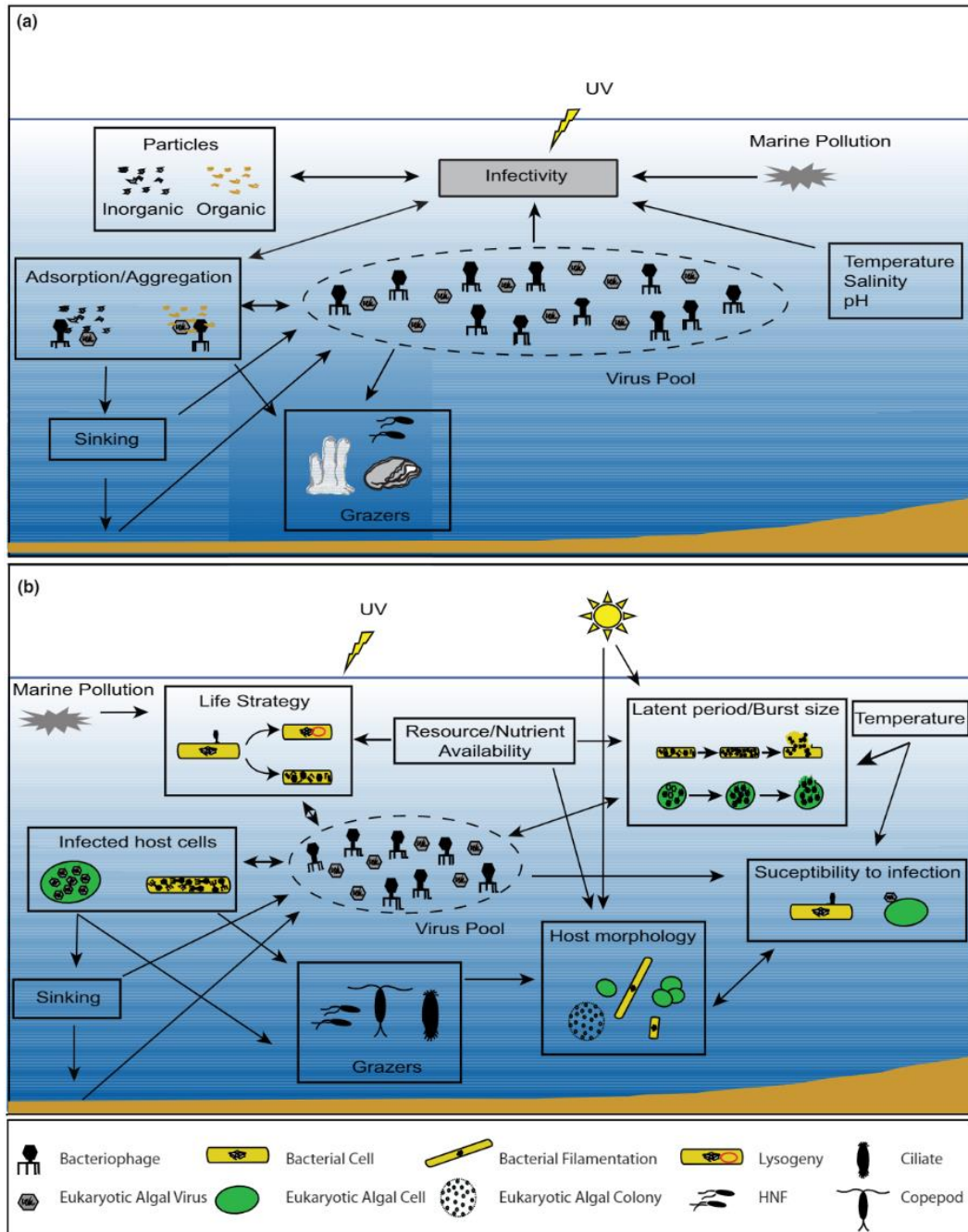
davantage de CO<sub>2</sub> de l'atmosphère diminue également (Sabine et al., 2004). Ainsi, en réponse à l'augmentation du CO<sub>2</sub> dans l'atmosphère, l'océan s'acidifie (Raven et al., 2005).

Cette acidification de l'océan impacte en particulier les organismes calcifiants, dont les Mollusques (Kroeker et al., 2013). Car en effet, pour fabriquer leur coquille ou structures calcifiées, ces êtres vivants ont besoin d'une certaine disponibilité en ions carbonates dans l'eau. Or la diminution du pH de l'eau de mer induit une réduction de la concentration des carbonates. Cela a donc des conséquences sur la croissance des organismes, mais aussi sur des fonctions physiologiques essentielles, qui peuvent se faire au détriment d'autres fonctions comme la réponse immunitaire (Gazeau et al., 2013). En effet, une diminution de pH, en plus de pouvoir provoquer un stress oxydatif, réduit la capacité de défense des invertébrés marins en affectant des propriétés de l'hémolymphe et la fonctionnalité des hémocytes (Malagoli and Ottaviani, 2005; Beesley et al., 2008; Bibby et al., 2008; Marine Fuhrmann, 2016; Matozzo et al., 2012).

Un autre paramètre abiotique qui influence la virulence d'OsHV-1 par rapport à *C. gigas* est la salinité de l'eau de mer (Fuhrmann et al., 2018). L'huître creuse vit, ou est élevée, dans des milieux à fortes fluctuations de salinité, et sont donc adaptées à des variations très grandes de ce paramètre. La zone de balancement des marées est un milieu extrême en termes de conditions abiotiques, ne serait-ce que par l'alternance des marées, entraînant des périodes d'exondation et d'immersion et modulant la quantité d'eau salée environnante qui contraste avec les éventuels apports d'eau douce sur l'estran. La salinité fluctue donc en fonction des cycles tidaux, des précipitations et du drainage des sites terrestres adjacents (Tirard et al., 1997; Gagnaire et al., 2006). La demande énergétique croissante en exposition à une salinité en augmentation peut détourner l'énergie d'autres processus, comme la défense contre les agents pathogènes (Fuhrmann, 2016). Les bivalves sont un reflet de leur environnement et

définis comme des animaux ectothermes, qui ne régulent pas leur température interne. Aussi leur hémolymphe acquiert facilement la salinité et la température du milieu extérieur (Shumway, 1977). Les hémocytes présents dans le système circulatoire de l'huître sont exposés aux variations de température et de salinité qui se produisent dans l'environnement (Gagnaire et al., 2006). Une salinité élevée peut augmenter le temps de propagation des hémocytes (Fisher and Newell, 1986) et donc réduire leur circulation vers les particules cibles, contre lesquelles l'huître doit se défendre, ce qui peut réduire ses capacités de défense et la rendre plus sensibles aux pathogènes (Gagnaire et al., 2006). En contexte de maladie, les modifications de salinité peuvent affecter le succès d'infection virale en modulant le différentiel de concentration ionique entre le milieu et la capsula, réduisant ainsi l'efficacité d'injection de l'ADN viral dans la cellule hôte (Mojica and Brussaard, 2014; Fuhrmann, 2016). Cette pression osmotique peut modifier l'adsorption du virus à son hôte. Les variations des facteurs abiotiques dans l'environnement sont nombreuses et peuvent donc être un moteur de virulence et de pathogénicité (Figure 21).

La gestion des risques de mortalité associés aux agents pathogènes est un élément essentiel de la durabilité de la conchyliculture. Bien que plusieurs facteurs de risque de transmission du virus OsHV-1 aient été identifiés (température, salinité, pH, âge des huîtres, bagage génétique, biomasse infectieuse, connectivité hydrodynamique, état énergétique), l'effet de facteurs environnementaux comme les caractéristiques biotiques des habitats sur la transmission d'OsHV-1 sont inconnus.



**Figure 21.** Schéma regroupant les facteurs et processus environnementaux dans l'environnement marin qui affectent la dynamique des virus et les interactions virus-hôte. (a) Synthèse des facteurs environnementaux pouvant entraîner l'élimination ou l'inactivation des particules virales, réduisant ainsi les chances de réussite de la rencontre avec l'hôte. (b) Aperçu des aspects qui peuvent influencer le pool viral en modifiant la dynamique de l'hôte et en diminuant la susceptibilité à l'infection ou en modifiant les caractéristiques de la prolifération virale. HNF désigne les nanoflagellés hétérotrophes (Mojica and Brussaard, 2014).

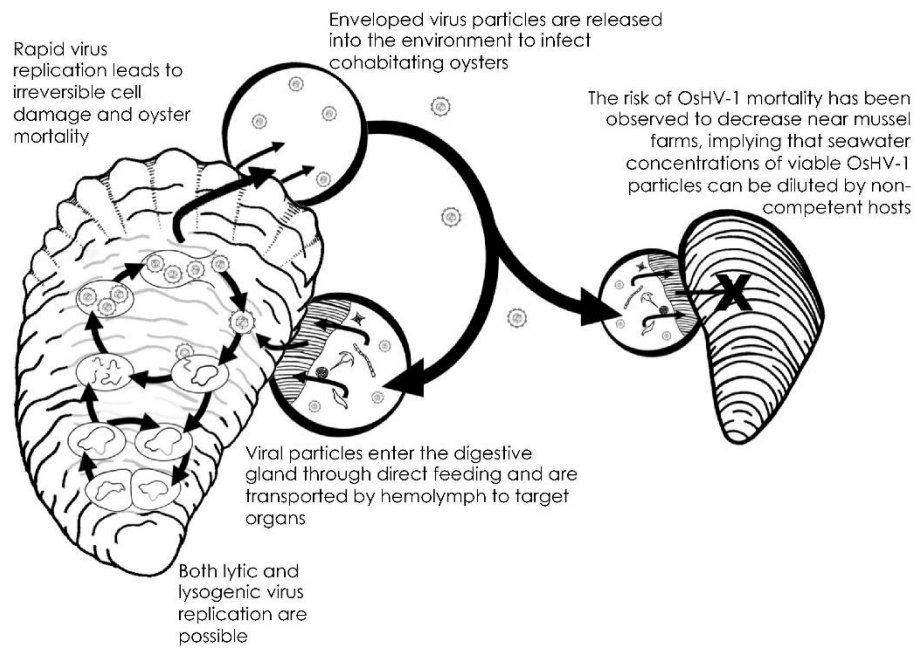
### III. L'huître et les communautés environnantes de son écosystème

#### III.1. Influence d'autres espèces de filtreurs suspensivores

Dans leur environnement, les huîtres sont exposées à un très grand nombre d'espèces environnantes. Les écosystèmes marins côtiers sont des zones très productives et diversifiées où le risque de maladie dépend des interactions hôte-pathogène-environnement (Elliot et al., 2002; Burge et al., 2014). Mais le rôle des facteurs biotiques sur les transmissions de maladie demeure peu connu.

Des études suggèrent un lien entre la diversité spécifique et la prévalence de maladies infectieuses (Keesing et al., 2006; Keesing et al., 2010). Plusieurs constats ont été faits qu'au voisinage d'autres espèces, les huîtres avaient tendance à mieux survivre face aux maladies durant la dernière décennie. Le risque de mortalité a notamment été réduit pour des huîtres déployées dans des élevages de moules, en comparaison à d'autres situées dans des élevages d'huîtres dans la lagune de Thau, en France (Pernet et al., 2012; Pernet et al., 2014b). Il a également été observé en Australie, qu'un événement de mortalité induit par OsHV-1 a été retardé pour *C. gigas* élevée non loin d'autres huîtres de l'espèce *Saccostrea glomerata* (Paul-Pont et al., 2013a). Ce genre de constat est en accord avec l'idée selon laquelle une diversité élevée d'hôtes est plus susceptible de diminuer que d'augmenter le risque de maladie (Keesing et al., 2006; Keesing et al., 2010). Une des hypothèses est que les organismes filtreurs auraient le potentiel de diminuer le risque d'infection en réduisant la quantité d'agents pathogènes dans le milieu par leur activité de filtration (Figure 22), notamment pour ceux d'entre eux qui ont une capacité de filtration très fine (Ben-Horin et al., 2015; Burge et al., 2016).





**Figure 22.** Schéma du cycle de vie de l'ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) in *Crassostrea gigas* au voisinage d'une mytiliculture (Ben-Horin et al., 2015).

À l'inverse, une autre hypothèse suggèrerait que les organismes environnants pourraient, en quelque sorte, concentrer les particules virales et agir comme réservoir facilitant la transmission de la maladie (Pernet et al., 2016). Qu'ils soient eux-mêmes impactés par l'infection virale causée par OsHV-1 ou simplement porteurs, le potentiel des organismes à agir comme puits ou sources d'agents pathogènes n'a encore jamais été examiné. D'autre part, concernant l'huître creuse seule, plus le nombre d'individus amassés au même endroit sera grand, plus le risque de mortalité sera *a priori* élevé. Une étude spatialisée dans la lagune de Thau a permis de mettre en lumière que ce risque est supérieur au sein des concessions ostréicoles, plutôt qu'en dehors de ces zones (Pernet et al., 2014b). Une concentration élevée d'individus dans une aire limitée favorise le développement de maladies.

Par ailleurs, certaines pratiques de cultures sont plus à risque que d'autres (Paul-Pont et al., 2013a; Normand et al., 2014; Pernet et al., 2014b; de Kantzow et al., 2017). Le fait de remonter le déploiement des huîtres sur l'estran, à une hauteur bathymétrique moins soumise à l'immersion, améliore la survie car le temps d'exposition aux particules virales est plus court

(Paul-Pont et al., 2013a; Whittington et al., 2015). La mortalité d'huîtres infectées par OsHV-1 dépend donc de la biomasse des animaux qui répliquent les particules virales et du temps d'immersion (Petton et al., 2015a). La dynamique spatiale et temporelle de la mortalité induite par OsHV-1 est, d'autre part, influencée par la qualité de l'environnement trophique et le statut énergétique des huîtres (Pernet et al., 2014a).

L'herpès virus OsHV-1 a été détecté chez d'autres bivalves comme l'huître plate *Ostrea edulis* (Comps and Cochenec, 1993), et *Ostrea angasi* (Hine and Thorne, 1997), *Tiostrea chilensis* (Hine et al., 1998), mais aussi la palourde japonaise *Ruditapes philippinarum* (Renault et al., 2001) et la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* (Arzul et al., 2001). Plus spécifiquement, OsHV-1  $\mu$ var a été retrouvé dans la telline *Donax trunculus* et les moules *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis* (Martenot et al., 2013).

Des travaux récents ont montré que des filtreurs suspensivores, indépendamment de leur sensibilité au virus, réduisent indirectement le taux d'infection des huîtres (Pernet et al., 2021). Ces organismes entretiennent des interactions de compétition avec l'huître, puisqu'ils consomment la même ressource, et diminuent donc la disponibilité en nourriture pour cette dernière. Une première idée serait de penser que les effets de cette compétition sont néfastes pour l'huître, qui aurait alors moins d'énergie disponible pour son métabolisme. Au contraire, c'est exactement là que se trouve l'effet bénéfique. En effet, ces filtreurs diminuent l'ingestion de nourriture des huîtres, ce qui ralentit leur taux de croissance et, par conséquent, la réplication virale qui en dépend. Avec moins de prolifération possible du virus, le risque de mortalité se trouve lui aussi diminué (Pernet et al., 2021). En outre, il est également possible que les filtreurs hébergent un microbiote spécifique à l'espèce qui déstabilise temporairement celui de l'huître, sa réponse immunitaire et sa sensibilité à la maladie (Pernet et al., 2021).

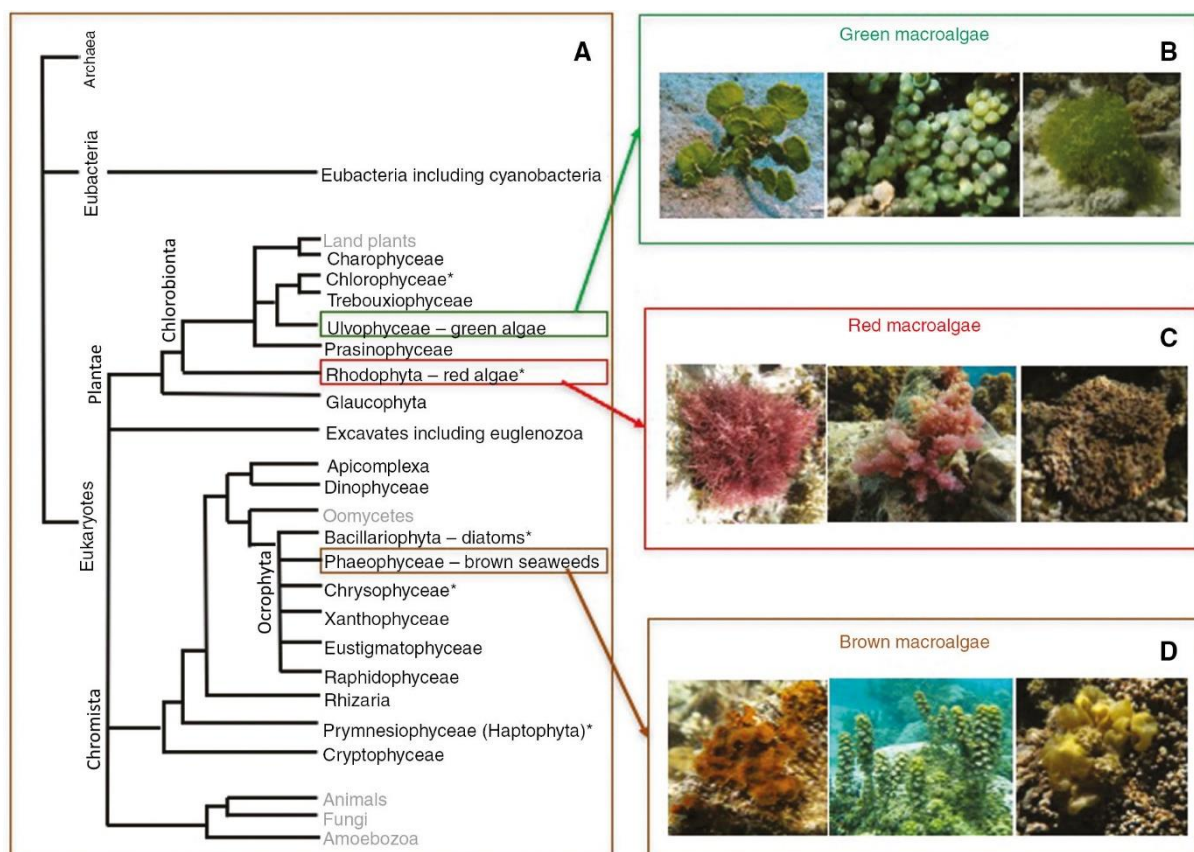
### III.2. Influence potentielle des macroalgues marines sur la faune littorale

#### III.2.1) *Taxonomie et diversité des macroalgues littorales*

On parle de « macroalgues » pour désigner les algues macroscopiques et les différencier des « microalgues ». La distinction faite entre macroalgues et microalgues est très imprécise et les macroalgues réfèrent généralement aux algues dont l'appareil végétatif est distinguable à l'œil nu, à la différence des algues unicellulaires microscopiques contenues dans le phytoplancton.

Les algues sont des organismes eucaryotes autotrophes photosynthétiques dont le cycle de vie se déroule généralement en milieu aquatique. Elles ne constituent pas un groupe évolutif unique mais rassemble plusieurs groupes polyphylétiques, basés sur leurs critères morphologiques, physiologiques et métaboliques (Stengel et al., 2011). Le terme d' « algue » est donc générique et n'est pas taxonomique.

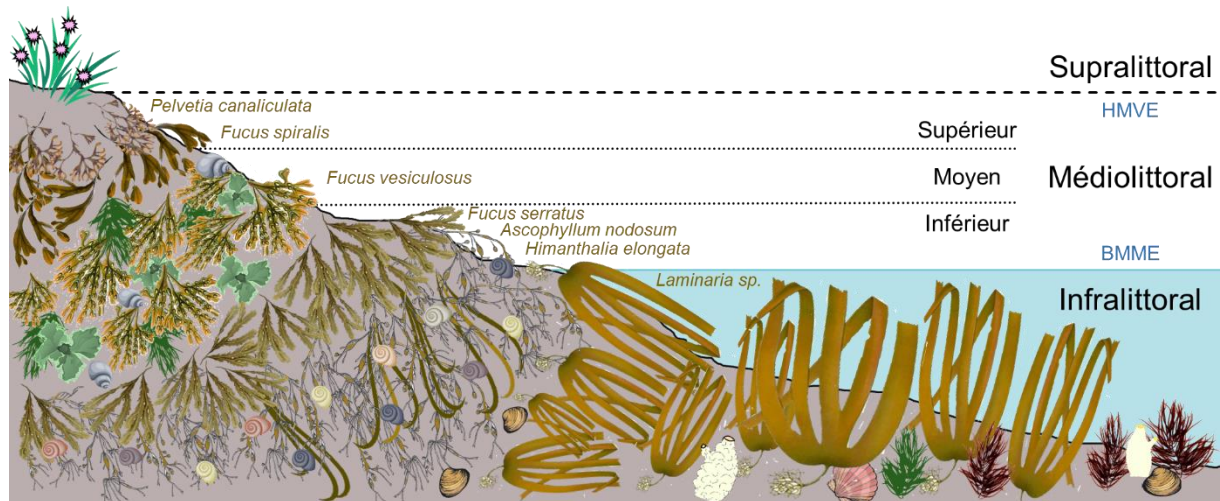
Parmi les algues marines, on distingue trois grands groupes, rassemblant les algues vertes (division Chlorophyta), les algues brunes (division Ocrophyta) et les algues rouges (Division Rhodophyta). Les macroalgues vertes de la Classe des Ulvophyceae sont réparties sur toute la surface du globe mais abondent particulièrement dans les régions tropicales et subtropicales (Fong and Paul, 2011). Les macroalgues brunes et particulièrement les représentants de la Classe des Phaeophyceae, sont dominantes dans les écosystèmes tempérés et sont moins diversifiées dans les milieux tropicaux (Fong and Paul, 2011). Enfin, les macroalgues rouges représentent le groupe le plus diversifié et peuvent avoir des formes encroutantes, calcifiées ou non (Fong and Paul, 2011). Dans ce travail, l'intérêt a été porté sur des macroalgues de milieu tempéré appartenant aux classes des Ulvophyceae (macroalgues vertes), Phaeophyceae (macroalgues brunes) et Florideophyceae (macroalgues rouges) (Figure 23).



**Figure 23.** Diversité des macroalgues. (A) Arbre phylogénétique simplifié, positionnant les groupes polyphylétiques des macroalgues au sein de différentes lignées. (B, C et D) Illustrations d'exemples de spécimens appartenant aux groupes des macroalgues vertes, rouges et brunes (modifié d'après (Stiger-Pouvreau and Zubia, 2020).

### III.2.2) Milieu de vie des macroalgues

Dans la zone de balancement des marées, les communautés d'organismes sont réparties selon un étagement bathymétrique littoral, marqué par des types de peuplements benthiques en ceintures bien délimitées, depuis le haut de la zone d'influence des embruns jusqu'à la fin du plateau continental (Pérès and Picard, 1958; Pérès and Picard, 1964). Cette zonation du littoral est caractérisée par le niveau atteint par la mer aux amplitudes des marées (Figure 24).



**Figure 24.** Schéma de la zonation littorale et de l'étagement des macroalgues brunes d'un mode abrité en milieu rocheux de Manche et d'Atlantique. ©Elyne Dugény

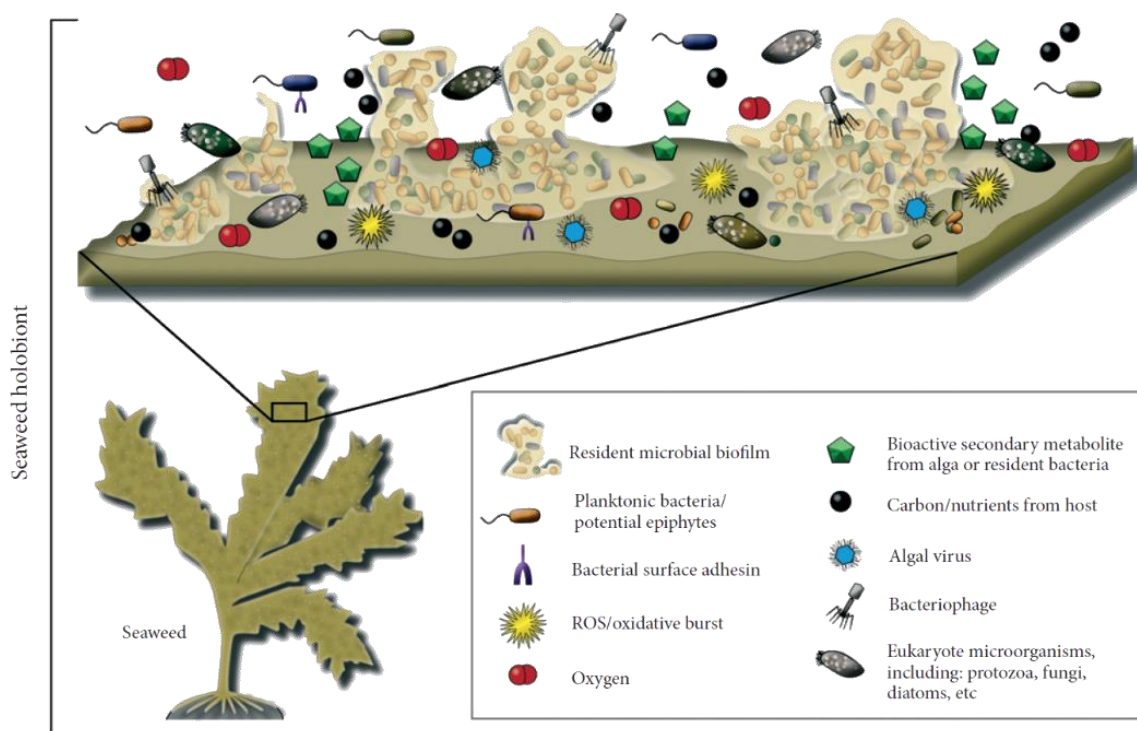
On distingue ainsi le supralittoral, qui est le niveau jamais immergé et seulement en contact avec les embruns, les plus hautes vagues des tempêtes ou les marées d'équinoxe, délimité au niveau inférieur par les marées hautes de vives eaux (HMVE sur Figure 24) ; le médiolittoral, qui correspond à la zone de balancement des marées, délimité au niveau inférieur par les marées basses de mortes eaux (BMME sur Figure 24) ; et enfin l'infralittoral, émergé uniquement lors des marées basses de vives eaux. C'est au niveau du médiolittoral qu'il y a alternance entre périodes d'immersion et d'émersion. Les communautés peuplant cet étage, vivant une partie de leur temps hors de l'eau, sont soumises à de fortes variations de température, des périodes de dessiccation et de grands changements de salinité à cause de l'évaporation ou de la dilution par les apports d'eau douce. De manière assez caractéristique, dans les milieux calmes comme les baies, les abers et les estuaires, les communautés de macroalgues et en particulier les algues brunes, de la classe des Phaeophyceae dans l'embranchement Ochrophyta, marquent très bien la délimitation de chaque étage littoral et subdivisent même toute la zone du médiolittoral (Figure 24). Certaines espèces sont emblématiques d'un niveau sur l'estran et se répartissent selon un gradient de profondeur.

Cette répartition dépend essentiellement de facteurs physiologiques (Cabioc'h et al., 1992), comme la capacité à résister à la déshydratation lors de l'émersion, le bagage pigmentaire impliqué dans la réalisation de la photosynthèse, le degré d'exposition à l'action des vagues (mode battu, semi-battu, moyennement abrité, abrité), l'amplitude des marées et la configuration de l'estran et enfin la luminosité, liée à l'orientation de l'estran (algues sciaphiles de l'étage circalittoral et algues plus ou moins photophiles). À ces facteurs abiotiques qui limitent leur répartition, s'ajoute un phénomène de compétition inter-spécifique qui pousse les êtres vivants à occuper la niche la plus appropriée à leur survie, dans le but de limiter les impacts de la compétition et de la prédation. La compétition pour l'espace, la lumière, ou encore l'accès aux ressources, déterminent la zonation des organismes. Ce sont les plus adaptés aux conditions écologiques locales qui occupent en grande partie une aire de répartition. La présence d'une espèce compétitive restreindra l'occupation de l'espace sur le littoral (Connell, 1961).

Les autres algues de l'embranchement Chlorophyta ne forment pas de vraies ceintures, continues ou régulières, comme les macroalgues brunes (Cabioc'h et al., 1992). Les algues vertes de la famille des Ulvophyceae sont la plupart du temps opportunistes et se développent rapidement parmi les premiers organismes, là où il y a peu de concurrence. Elles supportent l'ensoleillement, les variations de salinité ou de températures et aussi l'abondance des nitrates et de forts apports en nutriments. Parmi elles, les Ulvophyceae, et en particulier les espèces du genre *Ulva*, prolifèrent en période estivale sur le substrat dur que procurent les rochers. Les thalles de ces algues peuvent par la suite se détacher et former une structure flottante. Ce sont ces formes libres qui s'échouent dans les baies calmes, où elles finissent par s'accumuler, se dégrader et provoquer ce que l'on appelle les marées vertes.

### III.2.3) Importance des macroalgues dans l'écosystème côtier

Les macroalgues marines sont des eucaryotes photosynthétiques multicellulaires sessiles qui se différencient des plantes par leur absence de tissus spécialisés, comme un système racinaire et des structures vasculaires (Graham and Wilcox, 1999; Egan et al., 2013). Les macroalgues constituent des écosystèmes extrêmement diversifiés, aussi bien de manière immergée qu'émergée. Elles forment un groupe diversifié et omniprésent d'organismes photosynthétiques qui jouent un rôle essentiel dans les écosystèmes aquatiques (Egan et al., 2013). Elles fournissent une multitude d'habitats pour de nombreuses espèces de la faune marine, offrant un abri, une nurserie ou encore un terrain de chasse à de nombreux animaux. Ainsi, elles constituent de véritables ingénieurs de l'écosystème, dont l'état et la structure dépendent de l'équilibre complexe de son réseau trophique et des interactions établies entre les organismes vivants. En effet, ces ceintures intertidales forment diverses communautés juxtaposées et en interrelation. À la base de la chaîne alimentaire, les macroalgues fixées contribuent de manière significative à la production primaire, avec les microalgues agencées en biofilm et tapissant les substrats et au même titre que les microalgues du phytoplancton apportées par les courants. Les producteurs secondaires rassemblent les animaux herbivores, brouteurs ou filtreurs suspensivores, parfois même fouisseurs quand le substrat est meuble, les organismes détritivores, les prédateurs et les nécrophages. Les brouteurs contribuent à réguler l'expansion des macroalgues par leur régime alimentaire, en se nourrissant des nouvelles cohortes, et jouent un rôle de régulateurs de leur prolifération dans l'écosystème. D'autre part, les macroalgues constituent de véritables holobiontes. Comme d'autres organismes eucaryotes, elles abritent une riche diversité de microorganismes associés dont les fonctions sont liées à sa santé et à sa défense (Figure 25).



The seaweed holobiont and the factors predicted to influence bacterial colonization on macroalgal hosts.

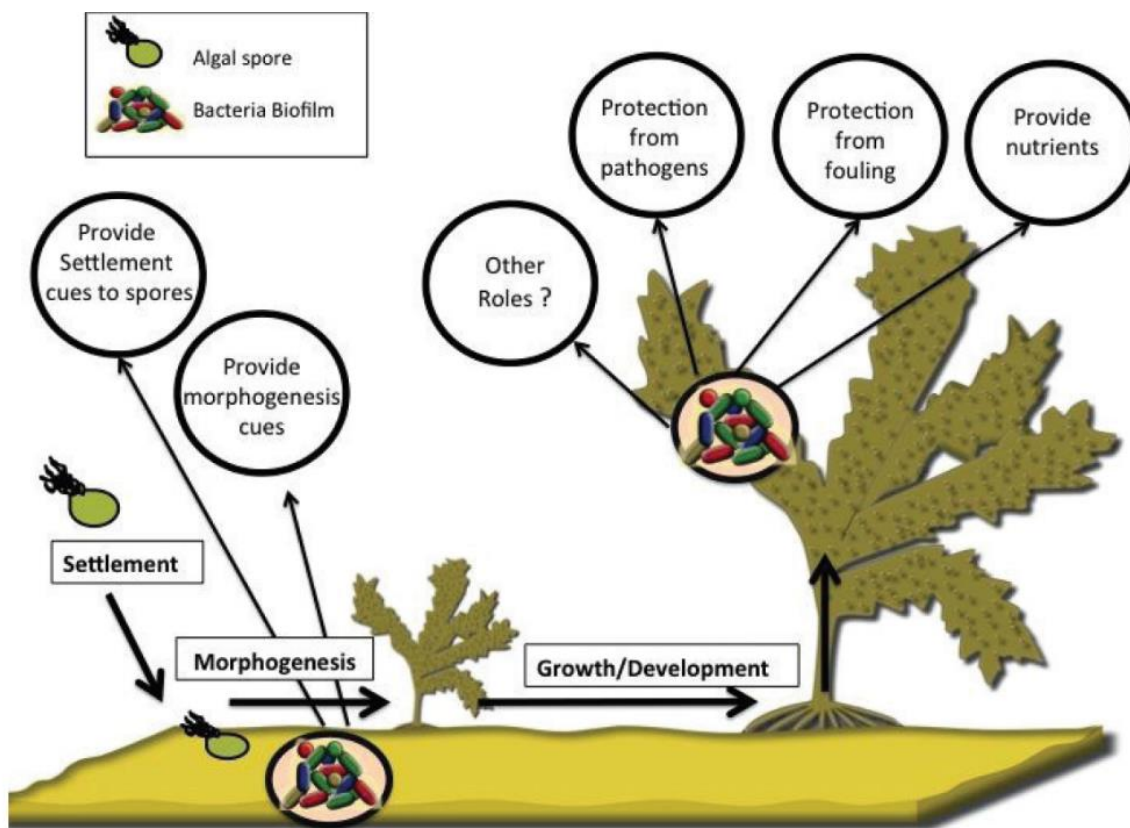
**Figure 25.** Schéma de l'holobionte macroalgue et des facteurs pouvant influencer les colonisations bactériennes à la surface du thalle (Egan et al., 2013).

En particulier, les communautés bactériennes épiphytes sont considérées comme essentielles au développement morphologique normal de l'algue hôte, et les bactéries ayant des propriétés antifoulings sont vouées à protéger les macroalgues, non défendues chimiquement contre une colonisation secondaire nuisible par d'autres épibiontes microscopiques et macroscopiques (Egan et al., 2013).

Cette relation étroite suggère que les macroalgues et les bactéries épiphytes interagissent comme une entité fonctionnelle analogue à la relation corail-zooxanthelles. La majorité des études se concentrant sur la diversité bactérienne, soulignent que ces communautés présentent des variations temporelles et spatiales, tout en restant distinctes de l'eau de mer environnante (Egan et al., 2017) (Figure 26).



Les interactions d'association entre les microorganismes marins et les macroalgues, au-delà d'être potentiellement positives, comme l'assurance d'apport de nutriments ou la protection antifouling contre microalgues et cyanobactéries, peuvent aussi être négatives. Elles peuvent en effet causer une maladie et la décomposition des structures de l'algue, les partenaires microbiens bénéficiant de l'apport direct de carbone organique, d'oxygène et de l'environnement protecteur fourni par l'hôte (Egan et al., 2017).



**Figure 26.** Schéma récapitulatif des rôles que peuvent avoir les communautés bactériennes épiphytiques vis-à-vis de leur macroalgue hôte (Egan et al., 2017).

De plus, étant donné que l'impact des maladies dans les écosystèmes marins est apparemment en augmentation, la compréhension du rôle des bactéries comme saprophytes et pathogènes dans les communautés d'algues peut avoir des implications importantes pour les stratégies de gestion marine (Egan et al., 2013).

Concernant les mécanismes de défense des macroalgues, beaucoup d'auteurs se sont intéressés aux propriétés antibactériennes et antioxydantes des molécules polyphénoliques, que sécrètent en particulier les algues brunes, en vue d'une utilisation en tant qu'agents antimicrobiens pour la conservation des aliments de manière plus naturelle (Devi et al., 2008; Rajauria et al., 2013; Wijesekara et al., 2011; Besednova et al., 2020; Ford et al., 2020). La résistance croissante des micro-organismes pathogènes aux médicaments suscite des inquiétudes dans le monde entier et pousse donc à la recherche de nouveaux composés naturels dotés de propriétés antibactériennes. De nos jours, la demande de conservateurs plus naturels augmente, en raison de l'abus de substances alimentaires synthétiques toxiques et de la résistance microbienne aux antibiotiques (Rajauria et al., 2013). Dans cet élan, les composés polyphénoliques provenant de végétaux marins et terrestres ont suscité un grand intérêt en tant qu'agents antimicrobiens efficaces (Valdés et al., 2017; Gutiérrez-del-Río et al., 2018). Les algues brunes contiennent une classe unique de composés bioactifs polyphénoliques, appelés phlorotannins, qui inhibent plusieurs microorganismes pathogènes et ont des effets bénéfiques pour la santé (Besednova et al., 2020; Wijesekara et al., 2011). Par exemple, il a été montré que l'algue brune *Himanthalia elongata* possède d'excellentes propriétés antimicrobiennes et antioxydantes, qui peuvent offrir des solutions d'application d'extraits comme conservateur alimentaire naturel ou nutraceutique, pour les compléments alimentaires bons pour la santé. Cette activité antioxydante contribue à la capacité des macroalgues à neutraliser les conséquences du stress oxydatif associé au vieillissement des organismes vivants (Anaya-Rosas et al., 2019) et pourrait ainsi permettre de meilleures conditions de survie aux êtres vivants.

#### III.2.4) Le cas des algues vertes et influence potentielle sur la faune

Les macroalgues vertes (embranchement Chlorophyta) ont une distribution cosmopolite, avec des espèces présentes dans tous les habitats aquatiques, de l'eau douce aux environnements salés, en passant par les eaux saumâtres (Ye et al., 2011).

Ces algues sont particulièrement sujettes aux fortes proliférations massives quand plusieurs facteurs sont réunis. Au sein de la communauté scientifique, l'eutrophisation par les effluents de l'élevage intensif comme cause de l'augmentation du nombre et de l'ampleur des marées vertes, depuis les années 90, semble faire consensus (Fletcher, 1996; Smetacek and Zingone, 2013; Valiela et al., 1997). Les eaux des rivières et des milieux lacustres, à l'instar des eaux marines côtières, peuvent être enrichies par des éléments nutritifs inorganiques comme de l'azote minéral, comprenant les nitrates, ou encore du phosphore, issus des activités humaines de zones urbanisées ou cultivées. Lorsque ces apports de fertilisants ou de produits organiques azotés sont en excès dans les eaux de surface, elles deviennent alors des milieux favorables au développement et à l'efflorescence, ou bloom, d'algues marines et de plantes aquatiques (Ye et al., 2011). S'ajoute à ces apports un effet de l'ensoleillement qui accentue les phénomènes d'eutrophisation, en apportant l'énergie lumineuse pour la photosynthèse. Cet enrichissement en nutriments inorganiques, naturel ou anthropique, au-delà du niveau critique maximal de la capacité d'autorégulation d'un système, permet la prolifération d'une biomasse végétale dans l'eau (Fletcher, 1996). Les macroalgues vertes (embranchement Chlorophyta) sont de loin les plus courantes dans les efflorescences, bien que certaines soient composées de macroalgues rouges (embranchement Rhodophyta) et brunes (embranchement Ochrophyta). Elles possèdent une capacité de croissance rapide qui leur permet de développer des thalles fins, composés de deux couches de cellules. Les efflorescences d'*Ulva spp.* se produisent principalement dans les eaux peu profondes. *Ulva*

*lactuca* (Linnaeus, 1753) en particulier, est une espèce avec des thalles en lames, mais des analyses génétiques ont démontré que d'autres algues vertes présentant des phénotypes tubulaires appartenaient aussi à l'espèce *U. lactuca*, bien qu'elles aient été précédemment décrites comme des espèces différentes ou même des genres distincts tels qu'*Enteromorpha* (Hayden et al., 2003). Sa capacité à adopter différents phénotypes peut être imputée à des paramètres environnementaux, tels que le degré de salinité de l'eau ou la symbiose avec des bactéries (Dominguez and Loret, 2019). Tandis que la plupart des espèces ne se développent que lorsqu'elles sont fixées à un substrat dur, quelques-unes peuvent augmenter considérablement leur biomasse à l'état flottant, soit en augmentant la taille des thalles et de leurs fragments, soit en fabriquant de nouveaux thalles flottants. Leur aptitude à vivre détachée du substrat leur permet de proliférer dans la colonne d'eau et les rend capables d'augmenter leur approvisionnement en nutriments, de se libérer de la compétition pour les substrats durs limités et d'éviter leurs nombreux brouteurs benthiques (Smetacek and Zingone, 2013). Elles flottent donc sous forme libre au gré des courants, jusqu'à ce qu'elles s'échouent dans des baies ou sur des plages. Lorsque ces algues meurent, leur décomposition entraîne une consommation d'oxygène aux dépens de la faune aquatique et crée des conditions de putréfaction, avec production de composés comme le sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) notamment, toxique à un certain seuil.

La grande majorité des marées vertes seraient composées de membres des genres *Ulva* (Fletcher, 1996). *Ulva* et *Enteromorpha* ont longtemps été considérés comme des genres différents, puis ont été rassemblés en entités d'évolution non distinctes, désormais incluses dans un seul même genre *Ulva* (Hayden et al., 2003). Le problème mondial des marées vertes a pris de l'ampleur et a été réellement considéré depuis les quatre dernières décennies (Ye et

al., 2011). Elles se produisent principalement dans la zone tempérée nord, en Amérique, en Europe et dans la région Asie du Pacifique, endroit le plus impacté (Figure 27).



**Figure 27.** Distribution mondiale des marées vertes au cours des quatre dernières décennies représentant les sites les plus fréquemment impactés. Le point rouge marque la plus grande marée verte du monde, qui s'est produite dans la mer Jaune, en Chine, en 2008 et 2009 (d'après Ye et al., 2011, figure modifiée d'après la Banque d'images SMART) ©SERVIER.

La prolifération croissante d'algues vertes dans le monde, due à l'eutrophisation (Smetacek and Zingone, 2013; Ye et al., 2011), peut avoir des conséquences sur les interactions hôte-pathogène et le risque de maladie. En effet, des études de terrain montrent que la prolifération d'algues vertes a des impacts dramatiques sur les communautés macrozoobenthiques et microbiennes (Quillien et al., 2015; Wang et al., 2020). Les algues vertes du genre *Ulva* contiennent des métabolites secondaires à l'activité antibactérienne, antivirale, antioxydante et anti-inflammatoire, qui influencent potentiellement la réponse d'un hôte vis-à-vis de ses pathogènes (Anaya-Rosas et al., 2019; Thanigaivel et al., 2016). Pour faire face aux macroinvertébrés, réduire la croissance des agents pathogènes et des

concurrents, elles produisent des substances macromoléculaires toxiques. L'une provient des thalles et une seconde d'un *Vibrio sp.* épibiotique associé au thalle (Harder et al., 2004). Les animaux environnants peuvent ainsi être exposés à des composés dissous et particuliers qui peuvent potentiellement modifier leur intégrité, leur homéostasie et leur réponse aux pathogènes. Ces produits naturels, appelés "composés allélopathiques" ou "substances allélochimiques" interviennent dans les interactions avec d'autres organismes (Amsler, 2008; Paul, 1992).

D'autre part, de récents travaux ont montré une certaine sensibilité de certains organismes aux algues vertes (Alstynne et al., 2015). Par exemple, chez la littorine *Littorina littorea* (Linnaeus, 1758), cela s'est traduit par un retard de croissance après ingestion, tandis que pour *Littorina obtusata* (Linnaeus, 1758), la réponse a induit une forte mortalité par la simple présence d'*Ulva lactuca* environnante (Peckol and Putnam, 2017). Seule *L. littorea* est concerné par l'ingestion d'algues vertes, car cette espèce s'en nourrit, mais *L. obtusata* s'alimente essentiellement du biofilm se développant à la surface des algues brunes. Les auteurs de ces travaux concluent sur la toxicité des algues du genre *Ulva*, mais l'état du microbiote des mollusques, par exemple, n'a pas été étudié. D'autres exemples relatent une influence néfaste de ces algues, qui auraient induit de fortes mortalités chez des balanes (Magre, 2008), auraient impacté des crabes à cause de la production d'exsudats toxiques et des faibles teneurs en dioxygène qui résultent de leur prolifération (Johnson and Welsh, 1985), ou encore auraient même stoppé le développement de larves d'huîtres à cause de leurs propriétés allélopathiques (Nelson et al., 2003).

De manière contradictoire, une autre étude a montré que des crevettes s'alimentant sur des ulves améliorent leur résistance aux maladies bactériennes et virales en bénéficiant d'un enrichissement en probiotiques (Anaya-Rosas et al., 2019; Mangott et al., 2020). Des algues

vertes *Ulva lactuca* ont aussi été utilisées en détritus unicellulaire<sup>10</sup> à des fins de nourriture, comme alternative aux microalgues pour des huîtres *C. gigas* (Alberto et al., 2020). L'expérience a montré une modification de la composition microbiologique de l'huître, a diminué l'activité enzymatique de ses lipases à cause d'une faible teneur en lipides et a augmenté l'activité des enzymes impliquées dans la digestion des glucides. Les auteurs concluent sur une utilisation possible de ces composés unicellulaires détritiques à des fins d'élevage pour l'ostréiculture, mais aucun test par rapport à la résistance aux pathogènes n'a été réalisé par la suite.

---

<sup>10</sup> "Single Cell Detritus" (SCD).

#### IV. Objectifs de la thèse

Au sein des écosystèmes marins, les maladies se propagent rapidement du fait de la circulation des agents pathogènes dans l'eau et de la difficulté d'empêcher leur transmission (Harvell et al., 2004; McCallum et al., 2004; Ward and Lafferty, 2004). Ces maladies sont en augmentation en milieu marin car elles sont favorisées par toutes les pressions environnementales croissantes exercées sur les habitats et leurs biocénoses (Harvell et al., 1999; Harvell et al., 2002; Lafferty and Holt, 2003; Harvell et al., 2004; Lafferty et al., 2004; Altizer et al., 2013; Burge et al., 2014; Lafferty et al., 2015; Byers, 2021). Comme nous l'avons vu, le risque de maladie des organismes dépend des interactions hôte-pathogène-environnement et tout impact dans l'un de ces trois paramètres pourrait l'augmenter (Burge et al., 2014). Beaucoup d'expériences ont considéré l'hôte et le pathogène seuls, sans prendre en compte les effets possibles de l'environnement abiotique et biotique (Ben-Horin et al. 2015; Cory and Deschodt, 2017). En ce qui concerne les variations potentielles de l'environnement, des études ont été réalisées pour comprendre les répercussions des conditions physico-chimiques sur les épisodes infectieux. Néanmoins, les effets potentiels des espèces animales ou végétales environnantes sur le risque infectieux en milieu marin ont été très peu étudiés jusqu'alors. Pourtant, un être vivant n'est jamais isolé dans son milieu de vie et est en constante interaction avec les facteurs environnants.

En particulier, l'huître creuse, un animal filtreur suspensivore dépourvu de locomotion et vivant dans la zone de balancement des marées, qu'elle soit sauvage ou cultivée, s'avère être un bon modèle d'étude pour étudier l'effet des communautés environnantes et des interactions biotiques en contexte de maladie. La maladie virale qui cause le POMS est adéquate pour l'étude des mécanismes d'adaptation rapide à l'émergence de pathogène. Sur l'estran, l'huître est entourée de nombreux organismes qui peuvent influencer son risque de



maladie et avoir un rôle sur la transmission de l'épidémie ou sur sa capacité à résister aux agents infectieux.

L'objectif de la thèse est de caractériser cette influence, en testant l'effet de communautés choisies sur la survie de l'huître creuse, lorsque celle-ci fait face à une infection virale engendrée par l'agent pathogène OsHV-1.

Pour ce faire, des expériences de cohabitation en milieu contrôlé ont été réalisées. Des naissains d'huître creuse saines et naïves, dites « Source Pathogen Free » (SPF), ont été mises au contact de différentes communautés, avant de subir un épisode infectieux, pour tester les effets de cette cohabitation sur la sensibilité au virus OsHV-1 et la survie face à l'infection.

Ces différentes expériences et les résultats obtenus font l'objet de deux chapitres développés dans ce manuscrit.

### **Chapitre 1 : Les communautés de macroalgues présentes dans le milieu de vie de l'huître creuse ont-elles un effet sur son risque de maladie en période d'infection par OsHV-1 $\mu$ var ?**

L'objectif de cette expérience était de tester l'influence potentielle de macroalgues sur la survie d'huîtres exposées à l'ostreid herpesvirus. Des algues appartenant aux trois embranchements différents des Chlorophyta, Ochrophyta et Rhodophyta, ont été récoltées en rade de Brest pour la manipulation expérimentale, afin de balayer largement le champ des possibles et explorer les effets de communautés très diversifiées. Les macroalgues ont été choisies pour cette première expérience, car elles sont largement réparties dans la zone intertidale en milieu calme et abrité, et sont donc retrouvées dans beaucoup d'exploitations ostréicoles. Même en milieu meuble ou en vasière, les structures solides conférées par les tables à huîtres sont propices à la croissance de ces macroalgues qui peuvent s'ancrer à ce substrat dur. D'autre part, chaque macroalgue fonctionne comme un petit écosystème à part

entière et comporte une multitude d'organismes associés et un microbiote très diversifié, qui jouent un rôle important dans son mode de vie (Egan et al., 2008; Egan et al., 2013; Hollants et al., 2013; Singh and Reddy, 2014). Ces algues et leurs communautés associées pourraient donc interagir avec l'huître et son microbiote. Les cortèges d'espèces sélectionnées étaient un assemblage d'*Ulva spp.* (Linnaeus, 1753) pour les algues vertes, *Fucus vesiculosus* (Linnaeus, 1753) pour les algues brunes et *Solieria chordalis* (C. Agardh, J. Agardh, 1842) pour les algues rouges, toutes en provenance du même site, au même étage littoral pour *Ulva* et *Fucus*. Bien que les huîtres soient des organismes suspensivores et ne se nourrissent donc pas de particules de ces algues, leur activité de filtration leur fait tout de même accumuler des potentiels éléments de l'algue côtoyée.

L'expérimentation s'est déroulée en deux phases avec des Naissains Standardisés Ifremer (NSI) d'huître creuse *C. gigas*, placés dans des bassins connectés à d'autres aquariums contenant les algues tests (voir Chapitre 1, Figure 1). La première phase, appelée période d'acclimatation, a duré deux semaines, pour permettre aux animaux de s'habituer à une des communautés d'algues. Durant cette phase, des prélèvements ont été effectués pour suivre l'évolution de l'acclimatation dans les analyses. À l'issue de cette période, la deuxième phase a été déclenchée pour la période d'infection, pendant laquelle des huîtres infectées expérimentalement avec une suspension virale d'OsHV-1  $\mu$ var ont été placées dans un bassin en amont de tous les autres, afin de délivrer une source infectieuse contenant des particules virales et transitant à travers les bassins tests jusqu'aux huîtres receveuses. Durant cette deuxième phase, la survie des huîtres a été relevée jusqu'à la fin de l'expérience, lorsque plus aucune mortalité ne survenait, et des prélèvements ont été effectués à des temps clés.

**Chapitre 2 : Un effet néfaste des algues vertes sur la survie des huîtres est-il inféodé au milieu de vie de l'algue ? Se généralise-t-il spatialement et temporellement pour différentes cohortes d'une même espèce ?**

Dans cette expérience, qui a été également réalisée en milieu contrôlé, l'objectif était de tester l'hypothèse selon laquelle des espèces opportunistes de différentes provenances et proliférant dans les milieux eutrophisés, telles que les communautés de macroalgues du genre *Ulva*, influenceraient la structure du microbiote de *C. gigas*. Pour cette manipulation expérimentale, ayant eu lieu deux ans après la première expérience, une cohorte d'algues vertes *Ulva spp.* a été récolté au même endroit que pour la première expérience, en Rade de Brest, pour avoir un réplica temporel. Les autres cohortes testées provenaient de la baie de Morlaix, de la baie de Concarneau et du Golfe du Morbihan. Là encore, des naissains ont été acclimatés pendant deux semaines à ces différentes communautés d'algues, sauf que cette fois-ci, en plus du lot de NSI, une famille d'huître sensible a été ajoutée.

*C. gigas* héberge différentes structures d'assemblage microbien en fonction de sa résistance aux maladies et ses bactéries associées peuvent être impliquées dans la sensibilité aux maladies (King et al., 2019b). Le but d'avoir des lots d'huîtres différents en termes de sensibilité à l'infection virale était donc d'identifier si les états microbiens de ces huîtres divergent et évoluent différemment pendant l'acclimatation avec les algues vertes. Nous voulions avoir une idée de la similarité du contenu bactérien de ces deux lots et éventuellement identifier les caractéristiques du microbiote liées à la mortalité ou à la résistance des huîtres. Selon des études holistiques récentes, les familles sensibles connaissent une déstabilisation précoce du microbiote (de Lorgeril et al., 2018; Clerissi et al., 2020).

Le NSI est un mélange de phénotypes plus ou moins sensibles aux maladies, proche de ce que l'on peut trouver en milieu naturel car issu d'un large pool de géniteurs, n'ayant jamais eu de contact avec les organismes pathogènes présents in situ. Des naissains de la famille S<sub>F15</sub>, connue pour son phénotype sensible vis-à-vis des pathogènes, ont été également utilisés en tant que receveurs dans cette expérience. Cela a permis, à l'issue de la première phase d'acclimatation de deux semaines, de déterminer la dynamique et l'intensité des mortalités induites par OsHV-1 suite à l'infection lors de la deuxième phase. De nouveau, des prélèvements d'échantillons ont été effectués tout au long de la manipulation et la survie des huîtres dites « receveuses » a été mesurée.



# Chapitre 1

---



## Présentation de l'article 1

Le risque de maladie est un élément majeur structurant dans le fonctionnement des écosystèmes et est régi par les interactions Hôte-Pathogène-Environnement (Burge et al., 2014). En milieu marin, les études des pathologies se sont principalement axées sur les effets des paramètres abiotiques sur la transmission des maladies.

Au-delà de cette attention portée à la compréhension de l'influence de certains facteurs physiques environnementaux sur la dynamique infectieuse, les relations entre un organisme hôte et son pathogène sont bien trop souvent considérées seules, isolées de toute interaction biotique (Ben-Horin et al., 2015) alors que tous deux coévoluent au sein de communautés diversifiées et sont en interaction avec beaucoup d'autres organismes environnants dans l'écosystème (Dobson, 2004; Hall et al., 2007). Cette cohabitation peut, elle aussi, influencer la transmission des pathogènes (Hall et al., 2007). Par ailleurs, si on se place du point de vue de l'holobionte (Meyer-Abich, 1943; Margulis and Fester, 1991), en lui-même, un être-vivant est un complexe d'organismes en constante interaction les uns avec les autres (Guerrero et al., 2013; Theis et al., 2016). Ainsi, bien que des interactions écologiques directes telles que la prédation (Ostfeld and Holt, 2004; Borer et al., 2009; Duffy et al., 2011; Orlofske et al., 2015) ou la compétition (Pernet et al., 2021) peuvent activement influencer les relations Hôtes-Pathogènes, des interactions écologiques indirectes peuvent également s'établir entre les individus, susceptibles de partager des microbes.

L'infection de l'huître creuse *Crassostrea gigas* par l'ostreid herpesvirus OsHV-1, et la maladie polymicrobienne qui en résulte (de Lorgeril et al., 2018), est un bon modèle pour étudier l'influence des interactions biotiques et des communautés microbiotiques sur l'établissement du syndrome de mortalité de l'huître du Pacifique.

Les macroalgues et les huîtres cohabitent dans les milieux intertidaux. Ces macroalgues hébergent des communautés microbiennes très diversifiées à la surface de leur thalles (Egan et al., 2008; Egan et al., 2013; Hollants et al., 2013; Singh and Reddy, 2014). Nous avons émis l'hypothèse que les algues pourraient potentiellement partager des microorganismes avec l'huître par leur simple présence dans l'environnement. Notre objectif était donc de tester l'effet potentiel des macroalgues sur le microbiote et le risque de maladie de l'huître creuse exposée à OsHV-1.

L'expérience dédiée à ce travail s'est déroulée en deux phases différentes en milieu contrôlé, à température, pH et salinité constants. Des huîtres âgées de 4 mois issues du Naissain Standardisé Ifremer (NSI), un matériel biologique standardisé, reproductible, testé sur la base d'une épreuve thermique et issu d'un large pool de géniteurs n'ayant jamais eu de contact avec les organismes pathogènes présents *in situ*, ont été acclimatées pendant 14 jours à trois macroalgues différentes récoltées en rade de Brest.

A l'issue des deux semaines d'acclimatation, une phase d'infection a été mise en place. Pour cela, des huîtres NSI Specific Pathogen Free (SPF) âgées de 8 mois ont été injectées avec une suspension virale d'OsHV-1 (donneurs) et placées dans un bassin connecté à l'entièreté du système, permettant de transmettre l'eau chargée en particules virales à tout le dispositif expérimental. Des prélèvements ont été effectués dans les différents compartiments (eau, algues et animaux) pour déterminer les effets de l'acclimatation aux algues sur les huîtres et leur répercussion pendant l'infection par OsHV-1. La survie des huîtres receveuses a été suivie grâce à la comptabilisation quotidienne des mortalités et ce, jusqu'à la dernière. Les résultats de cette expérience font l'objet de l'article présenté en **Chapitre 1**.



# Seaweeds influence oyster microbiota and disease susceptibility

*Published in Journal of Animal Ecology, British Ecological Society (2022)*

Elyne Dugény<sup>1</sup>, Julien de Lorgeril<sup>2,3</sup>, Bruno Petton<sup>1</sup>, Eve Toulza<sup>2</sup>, Yannick Gueguen<sup>2</sup>, Fabrice Pernet<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Univ Brest, Ifremer, CNRS, IRD, LEMAR, F-29280 Plouzané, France.

<sup>2</sup> IHPE, Université de Montpellier, CNRS, Ifremer, Université de Perpignan Via Domitia, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier, France.

<sup>3</sup> Ifremer, IRD, Univ Nouvelle-Calédonie, Univ La Réunion, ENTROPIE, F-98800 Nouméa, Nouvelle-Calédonie, France.

\* Author for correspondence: [fabrice.pernet@ifremer.fr](mailto:fabrice.pernet@ifremer.fr)

DOI: 10.1111/1365-2656.13662

## Abstract

The recent awareness of the diversity of microbes associated with larger host organisms has led to revise the paradigm of a pathogen = a disease, and to propose the concept of pathobiome which integrates the interaction of several organisms with the host and the environment. Recently, we demonstrated that the Pacific oyster mortality syndrome affecting *Crassostrea gigas* oysters is caused by infection with the ostreid herpesvirus type 1 (OsHV-1) followed by multiple bacterial infection. Here we extend the concept of this pathobiome beyond the host species and its microbiota by investigating how seaweed communities living in association with oysters influence their response to the disease. We hypothesized that by their mere presence in the environment, different species of seaweeds can positively or negatively influence the risk of disease in oysters by shaping their bacterial microbiota and their immune response. Although seaweed and oysters do not have direct ecological interactions, they are connected by seawater and likely share microbes. To test our hypothesis, oysters were acclimated with green, brown, or red algae for two weeks and then challenged with OsHV-1. We monitored host survival and pathogen proliferation and performed bacterial microbiota and transcriptome analyses. We found that seaweeds can alter the bacterial microbiota of the host and its response to the disease. More particularly, green algae *Ulva spp.* induced bacterial microbiota dysbiosis in oyster and modification of its transcriptional immune response leading to increased susceptibility to the disease. This work provides a better understanding of a marine disease and highlights the importance of considering both macro and microbiotic interactions for conservation, management, and exploitation of marine ecosystems and resources.

## Keywords

Bivalve, disease ecology, epidemiology, macroalgae, microbiome, pathogen

## I. Introduction

Invertebrate pathology has traditionally focused on single host-single pathogen interactions under given environmental conditions (Ben-Horin et al., 2015; Cory and Deschodt, 2017). However, invertebrate host and their pathogens are rarely found in isolation in natural situations. They indeed both exist within diverse and complex ecological communities, and interactions can influence the transmission and the impact of pathogens. Even where a primary agent can be identified, its effect is often influenced by other species interacting with the host, the pathogen or both (Vayssier-Taussat et al., 2014; Cory and Deschodt, 2017; Sweet and Bulling, 2017; Bass et al., 2019). More particularly, the microbiome, broadly defined as a collection of microorganisms living with the host (including bacteria, archaea, viruses, fungi, and unicellular eukaryotes), is increasingly recognized as a factor modifying interactions with pathogens. The pathobiome concept breaks down the idea of one pathogen = one disease, and highlights the role of the microbiome in pathogenesis (Vayssier-Taussat et al., 2014; Sweet and Bulling, 2017; Bass et al., 2019).

In aquatic ecosystems, microorganisms from one host species can be released into the water column, transported by currents and thus colonize neighboring hosts of various species. Thus, all hosts in the same system can exchange microorganisms horizontally via the water column, and the concept of pathobiome can be extended to all ecosystem components including the sediment (Bass et al., 2019). Disruption of the microbial profile within the host caused by pathogen infection, physiological status, population density, or environmental perturbations, can potentially lead to a pathogenic state.

A well-known case which illustrates the concept of pathobiome is the Pacific oyster mortality syndrome (POMS). POMS emerged in 2008, causing massive mortality in juvenile oysters, and rapidly became panzootic (Pernet et al., 2016). Infection by Ostreid Herpesvirus type 1  $\mu$ Var

(OsHV-1  $\mu$ var) is the first critical step in the infectious process, leading to an immunocompromised state by altering hemocyte physiology (de Lorgeril et al., 2018). The viral infection is followed by dysbiosis, an imbalance in the host microbial community that is associated with disease. Dysbiosis leads to a secondary colonization by opportunistic bacterial pathogens and oyster death. The reshuffling of the oyster microbiota is an integral part of the infectious process induced by OsHV-1 (Lucasson et al., 2020). In addition, oysters breed with differing levels of resistance to POMS exhibit constitutive differences in their bacterial microbiota, suggesting that it might play a role in host immunity (King et al., 2019; Pathirana et al., 2019; Clerissi et al., 2020). More broadly, the oyster microbiome changes according to tissues, geographical location, food regime, temperature, infection or antibiotic use (Dupont et al., 2020; Wegner et al., 2013; Lokmer and Wegner, 2015; Lokmer et al., 2016; King et al., 2019; Clerissi et al., 2020).

The risk of OsHV-1 mortality differs depending on the species that live around the oysters (Pernet et al., 2014; Pernet et al., 2021). Mortality risk of oysters held in mussel farms is lower than in oyster farms or empty farms, suggesting that mussels reduce the infection pressure on the host (Pernet et al., 2014). It is also possible that species that live around the oysters harbor species-specific bacterial microflora that influence the host microbiota, its immune response and its susceptibility to POMS (Pernet et al., 2021). The oyster pathobiome may be extended beyond the host species and its microbiota, leading to community models in which constituent species influences the health of the host population.

In this paper, we hypothesized that by their mere presence in the environment, different species of seaweeds can positively or negatively influence the risk of disease in oysters by shaping their bacterial microbiota and their immune response. Although seaweed and oysters do not have direct ecological interactions such as competitive, predatory, or symbiotic

relationships, they are connected by seawater and likely share microbes. Seaweed indeed harbor a rich diversity of associated bacteria (Egan et al., 2013) and their presence influence disease resistance of co-cultured shrimps (Anaya-Rosas et al., 2019). Here we developed a general study framework which include the oyster, its pathogen and bacterial microbiota, and seaweeds that can be applied to any other aquatic host.

To test our hypothesis, we exposed oysters to green (*Ulva spp.*), brown (*Fucus vesiculosus*) or red algae (*Solieria chordalis*) under laboratory conditions for two weeks and challenged them with OsHV-1. We chose these seaweeds because they thrive in different habitats and their bacterial microbiota was expected to be different (Lachnit et al., 2011; Singh and Reddy, 2014). We monitored host survival and pathogen proliferation and we conducted bacterial microbiota and transcriptome analyses.

## II. Material and methods

### II.1. Living organisms

Specific Pathogen Free (SPF) Pacific oysters *Crassostrea gigas* were produced under controlled conditions (Petton et al., 2015; Le Roux et al., 2016). Briefly, adult oysters were collected in the wild in Fouras (Marennes-Oléron, France; 46°0'43" N, 1°7'3"W) and moved to a grow-out farm located at Aber Benoît (northern Brittany, France; 48°34'30" N, 4°36'18"W) until being used as broodstock. In January 2018, they were transferred at the Ifremer marine station located at Argenton (Brittany, France; 48°31'16"N, 4°46'2"W, France) in 500-L flow-through tanks at 17°C and fed ad libitum for 6 weeks for conditioning. Gametes from 76 females and 12 males were collected by stripping and fertilized on 20 February 2018 as previously described (Petton et al., 2015). The oyster larvae were raised for 15 days at 25°C and settled on clutch for 10 d. The resulting spat were then transferred on 5 April 2018, at the Ifremer

marine station located at Bouin (France) for nursery. They were then transferred back to the Ifremer facilities at the Argenton experimental site at 4 months-old, for the start of the experiment on 6 July 2018. The oysters were screened using an OsHV-1-specific quantitative PCR assay at the different stages of production and no OsHV-1 DNA was detected.

Before the experiment, oysters were maintained at 21°C in 500 L flow-through tanks, supplied with seawater filtered to 5µm and exposed to UV irradiation. Animals were fed constantly with a mixture of two phytoplankton species, the diatom *Chaetoceros muelleri* (CCAP 1010/3) and the Prymnesiophyceae *Tisochrysis lutea* (CCAP 927/14) (1:1 in dry weight). Food concentration was measured daily using an electronic particle counter (Coulter Multisizer 3) equipped with a 100 µm aperture tube and maintained microalgae amount at *ca.* 1500 µm<sup>3</sup> µL<sup>-1</sup> in seawater at the outlet of the tanks. Temperature (21°C), salinity (34-35 g L<sup>-1</sup>), pH<sub>NBS</sub> (*ca.* 8.0) and oxygen (*ca.* 100%) were daily controlled with the WTW probes xi3101, cond340, pH3310 and FDO 925, respectively (Fisher scientific, Illkirch-Graffenstaden, France).

Seaweeds were collected on 5 July 2018 in the bay of Brest at Anse du Roz (48°19'21.7"N, 4°19'07.9"W) while seawater temperature was *ca.* 15.0°C. We retrieved the green algae *Ulva* spp. (Ulvophyceae), the brown algae *Fucus vesiculosus* (Phaeophyceae) and the red algae *Solieria chordalis* (Rhodophyceae). While *F. vesiculosus* and *S. chordalis* are easily visually identifiable species, this is not the case for *Ulva* species which exhibit multiple phenotypes and require DNA sequencing. As we have not performed any molecular analysis, identification of *Ulva* is limited to genus. These seaweeds were chosen because they thrive in different habitats, more or less anthropized, and their bacterial microbiota was expected to be different (Lachnit et al., 2011; Singh and Reddy, 2014). The green and the brown algae thrive in the middle shore of the intertidal zone and were collected by foot while the red algae are from

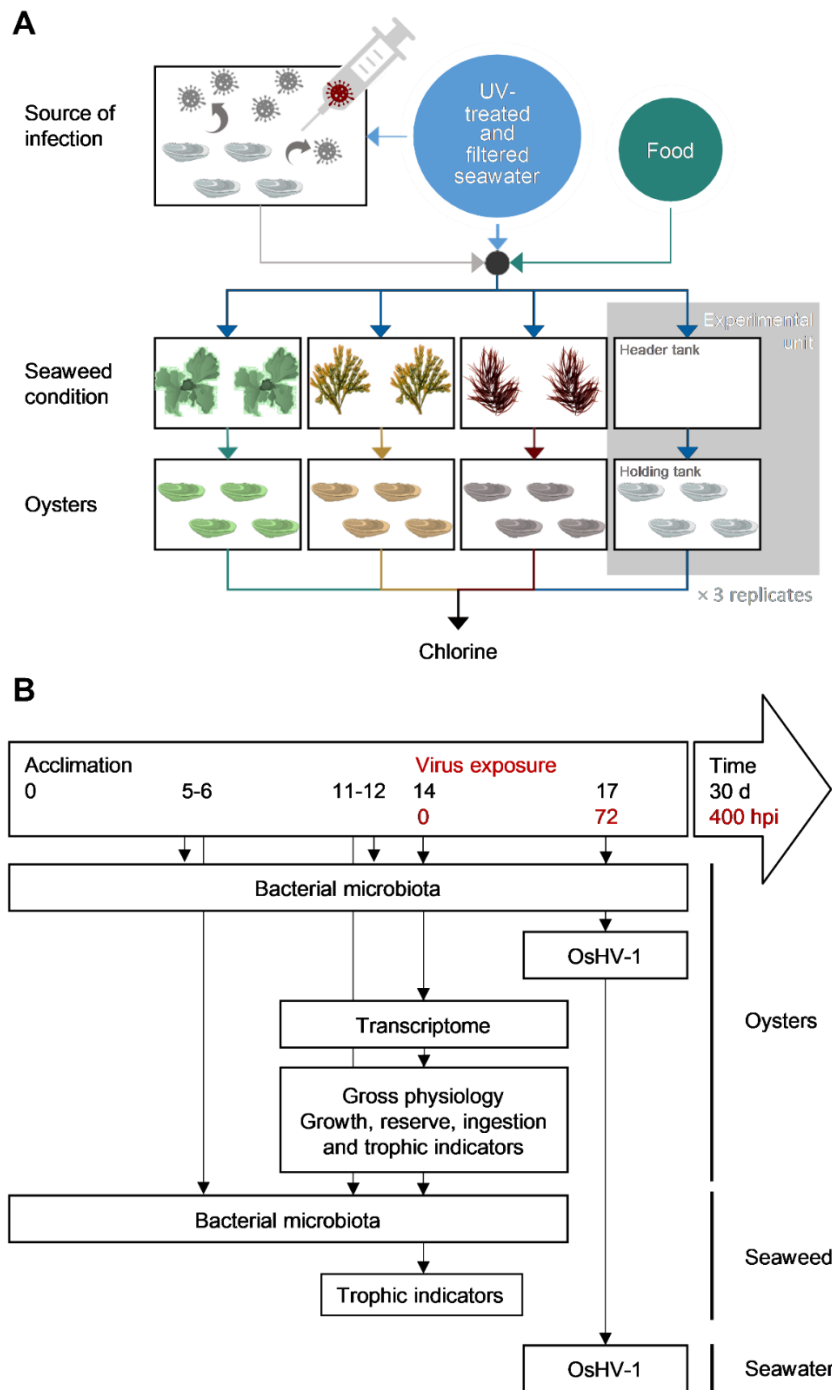
the upper sublittoral level and were collected by scuba-diving. The proliferation of green algae is generally associated to eutrophication, i.e. nutrient enrichment beyond the self-regulatory capacity of the marine ecosystem. In Brittany, since the 70s, green algae outbreak every year late spring or early summer (Morand and Merceron, 2005). The red algae *Solieria* sp. is often found in healthy sheltered areas in calm waters, attached to a variety of substrates including gravel, shells and other algae. In the bay of Brest, *Solieria* sp. is found in locally protected areas and in association with maërl bed (Floc'H et al., 1987). Finally, *Fucus vesiculosus* naturally live in zone of high water of neap tides (Hily and Jean, 1997). Green and brown algae species naturally coexist with oysters while the red algae species is found nearby in deeper areas.

Seaweeds were collected attached to their substrata (stones, shells or pieces of maërl) and maintained alive during the entire duration of the experiment. Once in the laboratory, each group of seaweed and their associated microorganisms were kept separated in three 500 L flow-through tanks after rinsing with seawater, until the onset of the experiment.

## II.2. Experimental design

Here we used a 3-level open-flow system developed in a previous study (Pernet et al., 2021) (Figure 1). Virus-contaminated seawater enriched with phytoplankton (level 1) was distributed amongst 12 experimental units consisting of one tank containing the seaweed (or left empty as control, level 2) connected to one recipient tank containing the SPF oysters (level 3, Figure 1A). Virus-contaminated seawater enriched with phytoplankton was evenly distributed to 12 experimental units, each consisting of one header tank containing the seaweeds (green, brown or red algae) or left empty as control connected to one holding tank containing the SPF oysters (Figure 1A). Each experimental unit was run in triplicate. Each header tank was connected to the seawater supply, to the food supply and to the source of infection by flexible

tubes fitted inside a peristaltic pump. The seawater flow was set at  $300 \text{ mL min}^{-1}$  at the entry of each header tank. Seawater overflowed from the header tank to the recipient tank. All the tanks were 45 L (60 x 40 x 19 cm) and illuminated by LED (EHEIM powerLED+, Deizisau, Germany) covering the full spectrum of sunlight to support the growth of algae. The photoperiod was fixed at 14L/10D. Seawater was homogenized by means of a recirculation pump and air bubbling to maintain  $\text{O}_2$  level. The phytoplankton concentration was adjusted at the inlet of the tank containing the seaweed (or control, level 2) to obtain  $\sim 800 \mu\text{m}^3 \mu\text{l}^{-1}$  at the outlet of the recipient tank (level 3). Seawater was sampled daily at the inlet and outlet of each experimental tank to determine phytoplankton consumption. The experiment consisted of two successive phases: acclimation and virus exposure (Figure 1B).



**Figure 1.** Experimental design (A) Only one replicate out of three is represented. Arrows indicate direction of water flow. Each experimental unit consists of a header tank containing seaweed (or control) flowing to a holding tank containing oysters. Sampling schedule (B). Timeline of sampling events for oysters, macroalgae and seawater.



### *II.2.1) Acclimation phase*

Seaweed and recipient oysters were placed in tanks from level 2 and 3 respectively on July 6th 2018 (Figure 1A). The seaweeds were well interspersed throughout the available volume of the tank. We put about 600 g wet weight of brown and green algae, and 1000 g wet weight of red algae. The biomass of oysters was *ca.* 170 g  $\pm$  0.1 in each tank, corresponding to 340 individuals. Acclimation lasted for 14 d until 20 July 2018.

### *II.2.2) Virus exposure*

The SPF oysters for injection were myorelaxed in MgCl<sub>2</sub> (50 g L<sup>-1</sup> in a mixture of seawater and distilled water 40/60 v/v) at 21°C (Suquet et al., 2009) on July 19th 2018. A total of *ca.* 600 oysters (2.13 kg) were individually injected in the adductor muscle with 50  $\mu$ L of viral suspension, containing  $1.7 \times 10^5$  copies of OsHV-1  $\mu$ Var  $\mu$ L<sup>-1</sup> diluted by 10x (Schikorski et al., 2011). They were kept without feeding in a 45 L tank in static oxygenized seawater for 24 h where they shed viral particles (Figure 1A). At this point, the seawater surrounding the donors became contaminated with the virus and used as the source of infection connected to the seawater distribution network by flexible tubes fitted inside a peristaltic pump (Pernet et al., 2021). The water input from the source of infection was arrested after 7 days of exposure. The donors were then removed. Survival of oysters placed in the virus-contaminated seawater (donors in level 1) and in the recipient tanks (level 3) was monitored daily for 16-20 d, and dead animals were removed at the end.

Due to logistical constraints, there was no uninfected control. In our experimental conditions, the survival of these controls is always 100%, so that they are generally excluded from the survival analyzes (see Pernet et al., 2021 and references therein). Therefore, we cannot

decipher the effect of virus from that of time (and any potential confounding time-related effects) during the virus exposure phase.

### II.3. Sampling

Oysters (N = 5 individuals) were sampled and weighted during acclimation at day 5, 12 and 14, and after virus exposure 72 h post-infection (hpi, 17 d) in each recipient tank (Figure S1). Soft tissues were removed from the shells, pooled together and flash frozen in liquid nitrogen and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Samples were then ground in liquid nitrogen with a MM400 homogenizer and the resulting powder was subsampled for bacterial microbiota (metabarcoding), gene expression (RNA sequencing) and lipid (classes and fatty acid). Five oysters were also individually sampled in each tank 72 hpi and directly ground for OsHV-1 DNA detection. Tissues were immediately homogenized with a polytron homogenizer in 2 mL of sterile artificial seawater and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until analysis.

Seaweeds (2g) were sampled during acclimation at day 6, 11 and 14 d for metabarcoding analyses, and at day 14 for fatty acid analyses (Figure S1). As for oysters, seaweed samples were flash frozen in liquid nitrogen, stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  and ground in liquid nitrogen.

Seawater (*ca.* 1 mL) was sampled at 72 hpi at the inlet and outlet of the tanks containing the oysters for OsHV-1 DNA analyses (Figure S1). Seawater was stored in sterile 1.5 mL Eppendorf tubes at  $-20^{\circ}\text{C}$  until analysis.

### II.4. Analyses

#### *II.4.1) Quantification of OsHV-1*

The detection and quantification of OsHV-1 DNA was carried out on seawater samples and individual oysters at 72 hpi, using a previously published qPCR protocol (Taqman, Martenot et al., 2011) by Laboceia, a French public diagnostic laboratory (Quimper, France, see File S1).

#### II.4.2) *Bacterial microbiota analysis*

Analyses were conducted as described in de Lorgeril et al. (2018). Briefly, DNA was extracted from 30 mg of frozen algae powders (sampled at days 6, 11 and 14) and oyster powders (sampled at days 5, 12, 14 and 17) using the DNA from tissue Macherey-Nagel kit (reference 740952.250). DNA concentration and purity were checked with the Nanodrop ND-1000 spectrometer. For each sample, 16S rDNA genes amplicon libraries were generated using the 341F-CCTACGGGNGGCWGCAG and 805R-GACTACHVGGGTATCTAATCC primers targeting the variable V3V4 loops for bacterial communities (Klindworth et al., 2013). Library were generated using the Illumina two-step PCR protocol and normalized SequelPrep plates. Paired-end sequencing with a 250-bp read length was performed at the Bio-Environnement UPVD technology platform (University of Perpignan Via Domitia Perpignan, France) on a MiSeq system (Illumina) using v2 chemistry according to the manufacturer's protocol. The FROGS pipeline (Find Rapidly OTU with Galaxy Solution) implemented into a Galaxy instance was used to define Operational Taxonomic Units (OTU) and to compute taxonomic affiliations (Escudié et al., 2018). Paired reads were merged using FLASH (Magoč and Salzberg, 2011). After denoising and primer/adaptor removal with Cutadapt (Martin, 2011), clustering was performed with SWARM, which uses a clustering algorithm with a threshold (distance=3) corresponding to the maximum number of differences between two OTUs (Mahé et al., 2014). Chimeras were removed using VSEARCH (Rognes et al., 2016). We excluded chloroplasts from the dataset and filtered out singletons and produced affiliations using Blast against the Silva 16S rDNA genes database (release 132, Dec 2017) to produce an OTU and affiliation table in the standard BIOM format. Rarefaction curves of the species richness, confirming a sufficient sequencing, were generated using the Phyloseq R package and the `rarefy_even_depth` and `ggrrare` functions (McMurdie and Holmes, 2013). We used Phyloseq to obtain community

composition and to infer diversity metrics at the OTU level using R v3.3.1 (R Development Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria [<http://www.R-project.org>]).

In addition, relative quantification of total bacteria 16S DNA was performed using quantitative PCR (qPCR) according to the same process described in de Lorgeril et al., 2018. Amplification reactions were analysed using a Roche LightCycler 480 Real-Time thermocycler (qPHD-Montpellier GenomiX platform, Montpellier University, France). The total qPCR reaction volume was 1.5  $\mu$ l and consisted of 0.5  $\mu$ l DNA (40 ng  $\mu$ l<sup>-1</sup>) and 1  $\mu$ l LightCycler 480 SYBR Green I Master mix (Roche) containing 0.5  $\mu$ M PCR primer (Eurogenetec SA). Total bacteria specific primer pairs used were the 341F-CCTACGGGNGGCWGCAG and 805R-GACTACHVGGGTATCTAATCC primers targeting the variable V3V4 loops for bacterial communities (Klindworth et al., 2013). A Labcyte Acoustic Automated Liquid Handling Platform (ECHO) was used for pipetting into the 384-well plate (Roche). A LightCycler<sup>®</sup> 480 Instrument (Roche) was used for qPCR with the following program: enzyme activation at 95 °C for 10 min, followed by 40 cycles of denaturation (95 °C, 10 s), hybridization (60 °C, 20 s) and elongation (72 °C, 25 s). A subsequent melting temperature curve of the amplicon was performed to verify the specificity of the amplification. Relative quantification of bacterial DNA copies were calculated by the  $2^{-\Delta\Delta Cq}$  method<sup>63</sup> with the mean of the measured threshold cycle values of two reference genes (Cg-BPI, GenBank: AY165040 and Cg-actin, GenBank: AF026063).

#### *II.4.3) Transcriptome analyses*

We analyzed the whole transcriptome of oysters to compare gene expression after 14 d of acclimation to different seaweeds. RNAs were extracted using 1.5 mL of Extract-All (EuroBio GEXEXT04 OU) from 30 mg of the oyster powders used for bacterial microbiota analysis (see

sampling section). RNA concentration and purity were checked using the Nanodrop spectrometer, and their integrity was analyzed by capillary electrophoresis on a BioAnalyzer 2100 (Agilent). RNA-seq library construction and sequencing were performed at the Bio-Environment platform. PolyA+ libraries were constructed using the NEBNext Ultra II directional kit according to manufacturer's instructions from 1µg of total RNA and sequenced on a NextSeq550 Instrument (SE 75 bp). Data were analyzed using a local Galaxy instance (Goecks et al., 2010). Reads quality was checked using the Fastq-X toolkit and since all reads display a Phred score above 26 over 90% of their length, no subsequent quality filtering was done (Goecks et al., 2010). Adaptor trimming was then performed using CutAdapt (Martin, 2011). Mapping to the *C. gigas* reference genome (assembly version V9 from Zhang et al., 2012) was performed using RNASTAR using default parameters (Galaxy Version 2.4.0d-2 from Dobin et al., 2013). The HTSeq-count tool (Anders et al., 2015) was used to count the number of reads overlapping annotated genes (Galaxy Version v0.6.1). Differential gene expression levels were analyzed with the DESeq2 R package implemented into a Galaxy instance (DESeq {DESeq2} from Love et al., 2014). Fold changes between conditions were considered significant when the adjusted p-value for multiple testing with the Benjamini-Hochberg procedure, which controls the false discovery rate (FDR), was < 0.05.

#### II.4.4) Gene ontology annotation analysis

Functional analyses of the differentially expressed genes (DEGs) were performed *de novo* on assembled transcripts using gene ontology annotation. Blastx comparison against the NR database was performed for the 28,027 genes annotated in the genome, with a maximum number of target hits of 20 and a minimum e-value of 0.001. XML blast result files were loaded onto Blast2GO (Conesa et al., 2005) for GO mapping and annotation with the b2g\_sep13 version of the B2G database. GO terms of differentially expressed genes (DEGs, over- and

under-expressed) and associated p-value (DESeq 2) were used as inputs for REVIGO (REduce + Visualize Gene Ontology), to obtain hierarchical visualisation of non-redundant GO term set (Supek et al., 2011). Over-represented GO terms in one condition compared to another were visualized using hierarchical treemaps (biological process) and scatterplots (molecular function).

#### *II.4.5) Gross physiology of oysters*

Although oysters are filter-feeders and do not directly fed on macroalgae, they still might be exposed to dissolved and particulate compounds that potentially alter the response to pathogens. We therefore provide complementary measurements of host growth, food ingestion, energy reserves and trophic indicators to investigate potential confounders.

From daily measurements of phytoplankton concentration at the inlet and outlet of each oyster tank (see previous sections), we calculated the food consumption expressed in volume of microalgae consumed per minute once a day over the duration of the experiment. Daily ingestion rates were averaged over the acclimation periods for each condition and tank.

We evaluate the triacylglycerol to sterol ratio (TAG/ST) of oysters at the end of the acclimation period. The TAG/ST is indeed a proxy of physiological condition in marine organisms associated with disease resistance or tolerance in oysters (Pernet et al., 2019). A subsample of oyster powder sampled at 14 d was placed in glass vials containing chloroform–methanol (2:1 v/v) and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  under nitrogen until analyses (File S1).

We investigated with fatty acids whether the seaweed had contributed to the oyster diet. We analyzed the fatty acid composition of total lipids in seaweed (food sources) and of neutral lipids in oysters (consumers) as described in file S1. We consider that the fatty acid composition of a consumer reflects that of his food sources (“you are what you eat” principle),

and that seaweed have very different fatty acid profiles depending on the species (Dalsgaard et al., 2003). Therefore, if the oysters have consumed seaweed, this will show in their fatty acid profile.

## II.5. Statistics

The survival time curves of oysters exposed to OsHV-1 were compared using the Cox regression model considering the effect of seaweed (4 levels, green, brown, red and control condition). Each tank was considered as cluster using the sandwich method to obtain robust parameter estimates. The proportionality of hazards (PH) was checked with martingale residuals.

Mixed-model ANOVAs were performed to assess differences in (1) prevalence and quantification of OsHV-1 DNA in oysters 72 hpi depending on seaweed (4 levels), (2) OsHV-1 DNA in seawater 72 hpi depending on seaweed (4 levels, main plot), levels (2 levels, inlet and outlet of the holding tank, subplots) and their interaction, and (3) oyster total body mass, ingestion rate, and physiological condition (triglyceride to sterol ratio) depending on seaweed (4 levels).

The unit of replication (random factor) was the tank in which the seaweed conditions were applied. Tukey's HSD was used as a post hoc test. The statistical threshold for rejection of the null hypothesis was set at 0.05. When  $0.05 < p < 0.10$ , power analysis was conducted to assess the probability of accepting the null hypothesis when it is false. In general, a power of 0.80 is acceptable. The normality of residuals and homogeneity of variances were graphically checked, and the data were log-transformed where necessary. Prevalence data were fitted a binomial distribution. When OsHV-1 DNA was detected but below the quantification threshold (10 cp ul<sup>-1</sup>), individuals were considered positive and assigned the value of 10 cp mg<sup>-1</sup> DNA.

All these analyses were conducted with the SAS software package (SAS 9.4; SAS Institute, Cary, North Carolina, USA).

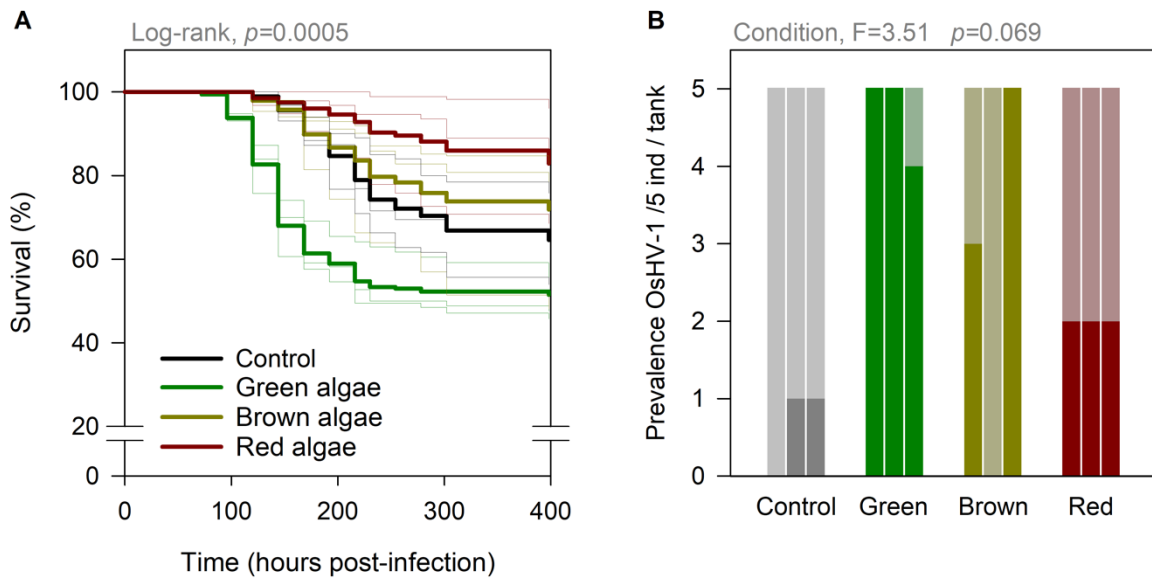
Microbial assemblages were compared across tissue types (algae and oysters) and sampling time according to the following procedure using R v3.3.1 (R Development Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria [<http://www.R-project.org>]). Principal coordinate analyses (PCoA, {phyloseq}) were computed to represent dissimilarities between samples using the Bray–Curtis distance matrix (ordinate, {phyloseq}). Multivariate homogeneity of group dispersions was tested between bacterial assemblages among samples using 999 permutations (permutest, betadisper, {vegan}). The 200 most abundant OTUs (to the lowest affiliated rank) were selected and used for DESeq2 analyses (DESeq {DESeq2}) to identify those whose abundance varied between conditions (Love et al., 2014). We first identified taxa whose relative abundance changed among conditions after the acclimation period by comparing oysters exposed for 14 days with a specific alga and their controls collected at the same time. Then, we identified OTUs whose relative abundance changed during the infection phase by comparing oysters acclimated for 14 days with a specific alga and their counterparts exposed to the virus collected at 17 d. Heatmaps of taxa (genera) with significant changes in abundances during acclimation and infection phases were computed using the  $\log_2$  of relative abundances and Multiple Array Viewer software (Supek et al., 2011).

### III. Results

#### III.1. Oyster survival and OsHV-1

Survival of recipient oysters acclimated to green algae for 14 d and further exposed to OsHV-1 was only  $52 \pm 5$  %, compared to  $66 \pm 11$  % for controls,  $72 \pm 17$  % for brown algae, and  $83 \pm 13$  % for red algae (Figure 2A).





**Figure 2.** Survival of oysters exposed to OsHV-1 after acclimation with algae (A) and prevalence of OsHV-1 in oysters (B). The thin lines in graph A represent the survival curves for each individual tank while the thick line is the average by condition. The y axis of graph B is the number of oysters positive to OsHV-1 out of 5 tested for each tank and condition 72 hpi. There are three bars per condition, each corresponding to one tank (replicate). The dark part of the bars represents positive individuals while the light part represents individuals for whom the virus was not detected (negative). Star indicates significant differences.

Odds of oyster mortality were twice higher for green algae than for any other conditions (Table 1). Conversely, the probability of oyster mortality was half as high in the red algae conditions compared to the control. This result was close to statistical significance and the power value of the test was low (0.523). There was no detectable difference in survival among oysters acclimated to brown algae, red algae and controls (Table 1).

**Table 1.** Cox regression model for survival data of oysters acclimated to algae and exposed to OsHV-1. Control oysters with no algae were used as reference.

Condition	df	Estimate	SE	$\chi^2$	$P$	Odds ratio
Brown	1	-0.203	0.360	0.318	0.573	0.816
Green	1	0.662	0.190	12.175	<b>0.001</b>	1.939
Red	1	-0.776	0.432	3.227	0.072	0.460

The effect of seaweed on virus prevalence was close to statistical significance ( $p < 0.1$ ), but appeared higher in individuals acclimated to green algae (on all three tanks, 14 out of 15 individuals were positive) than in other conditions ( $< 7$  positive out of 15 individuals, Figure 2B, Table S1). This trend was confirmed by higher amounts of viral DNA detected in oysters acclimated to green algae (Table 2). Virus load in seawater (estimated by the number of OsHV-1 DNA copies  $\text{mL}^{-1}$  detected by qPCR) at the inlet of the oyster tanks were similar among conditions (between  $9.8 \times 10^3$ – $1.7 \times 10^4$  OsHV-1 DNA copies  $\text{mL}^{-1}$ , Figure S1).

**Table 2.** Levels of OsHV-1 DNA (cp  $\text{mg}^{-1}$ ) in oysters acclimated to seaweed and exposed to the virus 72 hpi. Data are means  $\pm$  SD ( $n=3$  tanks). Summary of ANOVA performed on log-transformed data. Means sharing a letter are not significantly different (Tukey-adjusted comparisons). Abbreviations: SE, standard error; ddf, denominator degree of freedom.

Condition	OsHV-1 DNA	ANOVA ( $F=4.85$ , $P=0.033$ )				
		Estimate	SE	ddf	<i>t</i> value	P
Green	$3.3 \times 10^5 \pm 5.2 \times 10^5$	2.053 <sup>a</sup>	0.349	8	5.88	0.000
Brown	$7.7 \times 10^1 \pm 1.3 \times 10^2$	0.578 <sup>b</sup>	0.349	8	1.66	0.136
Red	$4.6 \times 10^4 \pm 8.0 \times 10^4$	0.906 <sup>b</sup>	0.349	8	2.60	0.032
Control	$2.7 \times 10^2 \pm 4.6 \times 10^2$	0.307 <sup>b</sup>	0.349	8	0.88	0.405

### III.2. Bacterial microbiota

We analysed bacterial communities using 16S metabarcoding during acclimation in seaweeds and oysters (5-6, 11-12, 14 d) and infection in oysters (17 d). A total of 9,636,786 reads were obtained from 292 libraries. After the cleaning and filtering steps, 8,330,874 sequences were affiliated to 20,105 OTUs. After removing chloroplasts and non-bacteria, a total of 18,176 OTUs were kept for further analyses (Supplementary data in Dugeny et al., 2021, Figure S2).

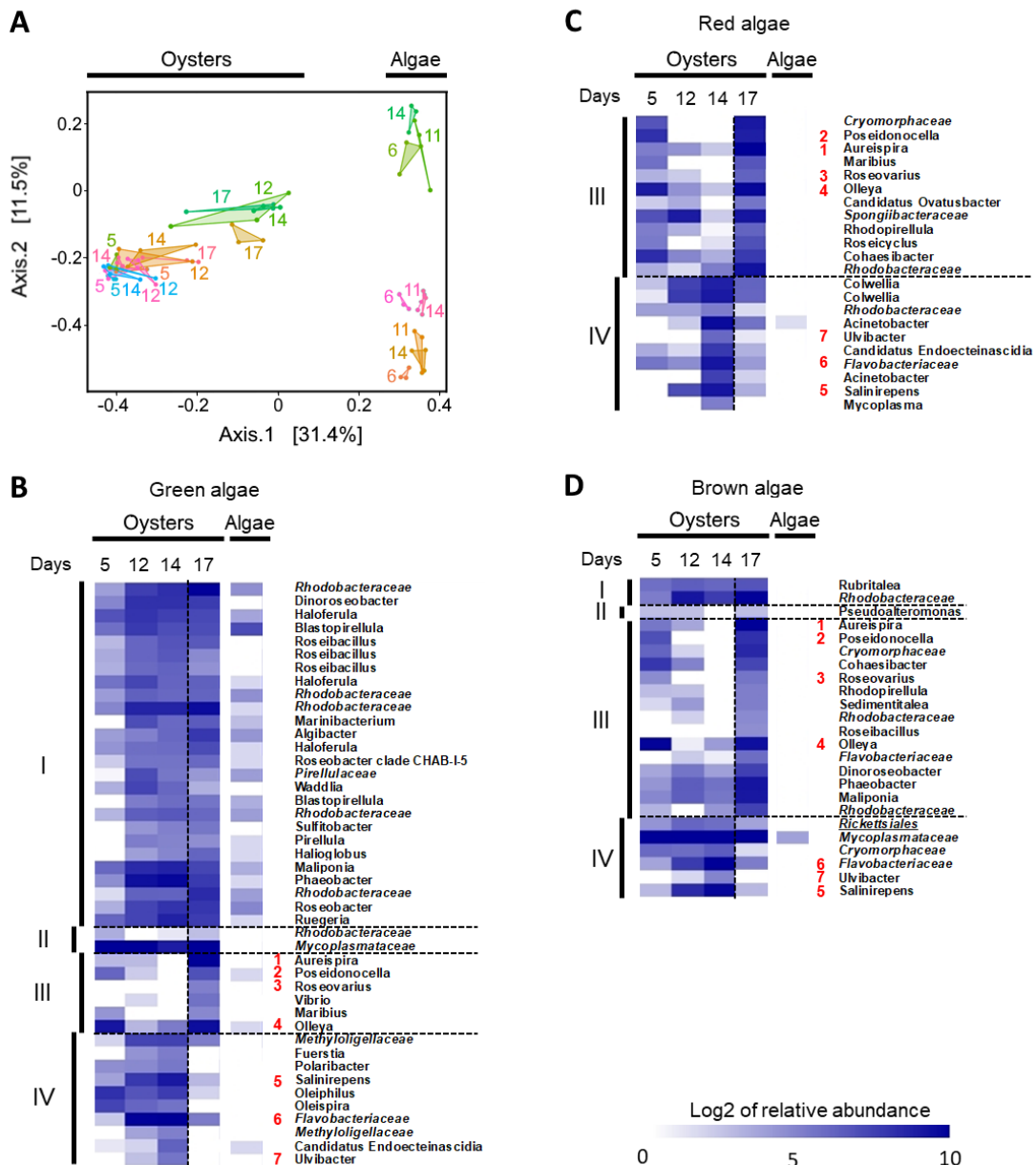
The bacterial microbiota of algae varied among species and remained stable during the acclimation period (Figures 3A and S3, and PERMANOVAs Table S2). Diversity indices in algae did not change over time (Figure S4).

The bacterial microbiota of oysters acclimated to green algae diverged from that of controls after 12 d while it remained similar for other conditions (Figures 3A and S3, PERMANOVA Tables S2 and S3). This was reflected in indices of bacterial diversity: they all increased in oysters during acclimation to green algae while they remained stable for other conditions (Figure S5).

During the virus exposure phase, the addition of OsHV-1 induced a shift in the bacterial microbiota of oysters held with brown algae and red algae and resulted in an increase in diversity indices (Figure 3A and S5, PERMANOVA Tables S2 and S3). Overall, in the green algae condition, bacterial microbiota composition of oysters changed during the acclimation phase, whereas in other conditions, changes occurred later during virus exposure. Class-level assignment of bacterial OTUs indicated that oysters acclimated to green algae showed a marked decrease in the relative abundance of *Mollicutes* at the benefit of *Alphaproteobacteria* between 5 d and 12 d (Figure S3). These changes occurred in oysters held with brown or red algae later during virus exposure (17 d).

In addition, bacterial communities (200 most abundant OTUs) were analysed at the genera level during acclimation to algae and virus exposure. The most significant changes occurred in oysters acclimated to green algae (compared to control at 14 d). The relative abundance of 28 OTUs changed (26 were over-represented, 4 of them belong to the *Rhodobacteraceae* family) and 20 of them were shared with algae (Figure 3B). There was no difference in the relative abundance of OTUs between oysters acclimated to red algae and control (Figure 3C). In oysters acclimated to brown algae, only 3 OTUs specific to oysters were modified (Figure 3D).

Virus exposure was associated with significant changes in the relative abundance of OTUs in oysters acclimated to green algae (16 OTUs, 6 over-represented), brown algae (21 OTUs, 15 over-represented) and red algae (22 OTUs, 12 over-represented) (Figure 3B-D). Among these OTUs, 7 were common to the three conditions. Four genera were over-represented (*Aureispira*, *Poseidonocella*, *Roseovarius* and *Olleya*), the others were under-represented (*Salinirepens*, *Flavobacteriaceae* and *Ulvibacter*). Two of these over-represented OTUs were detected in green algae at the beginning of the acclimation phase (genera *Poseidonocella* and *Olleya*, Figure 3B-D). It is noteworthy that the relative abundance of one OTU corresponding to the genus *Vibrio* increased during infection in oysters acclimated to green algae.



**Figure 3.** Bacterial microbiota in oysters during acclimation to algae and virus exposure. Multidimensional Scaling (MDS) plot of the Bray-Curtis dissimilarity matrix of the microbiota (**A**). Each point of the triangles corresponds to one of the 3 replicates at one time. Dots represent distinct pools of 5 oysters. Colors correspond to algal species and numbers refer to days. Heatmaps of the bacterial taxa that were modified in oysters during acclimation to algae and virus exposure (**B-D**). Significant changes in taxa were evaluated by DESeq during acclimation (algae vs control at 14 d) and virus exposure (17 d vs 14 d within algae). The numbers in red indicate taxa whose relative abundance was modified in all conditions during virus exposure. OTUs are classified according to the value of DESeq fold change (higher to lower) and clustered in four groups. Groups I and II include taxa whose relative abundances increased or decreased respectively during acclimation to algae whereas group III and IV include those that increased or decreased, respectively, during virus exposure. Analyses were performed at the genera level. The algae column corresponds to relative abundance of the bacterial taxa in algae at the beginning of the experiment (0 d) of that were modified in oysters. The intensity level of the blue represents the relative abundance of bacterial taxa. At each time, the analysis was performed on 3 distinct pools of 5 oysters or 3 algae samples.

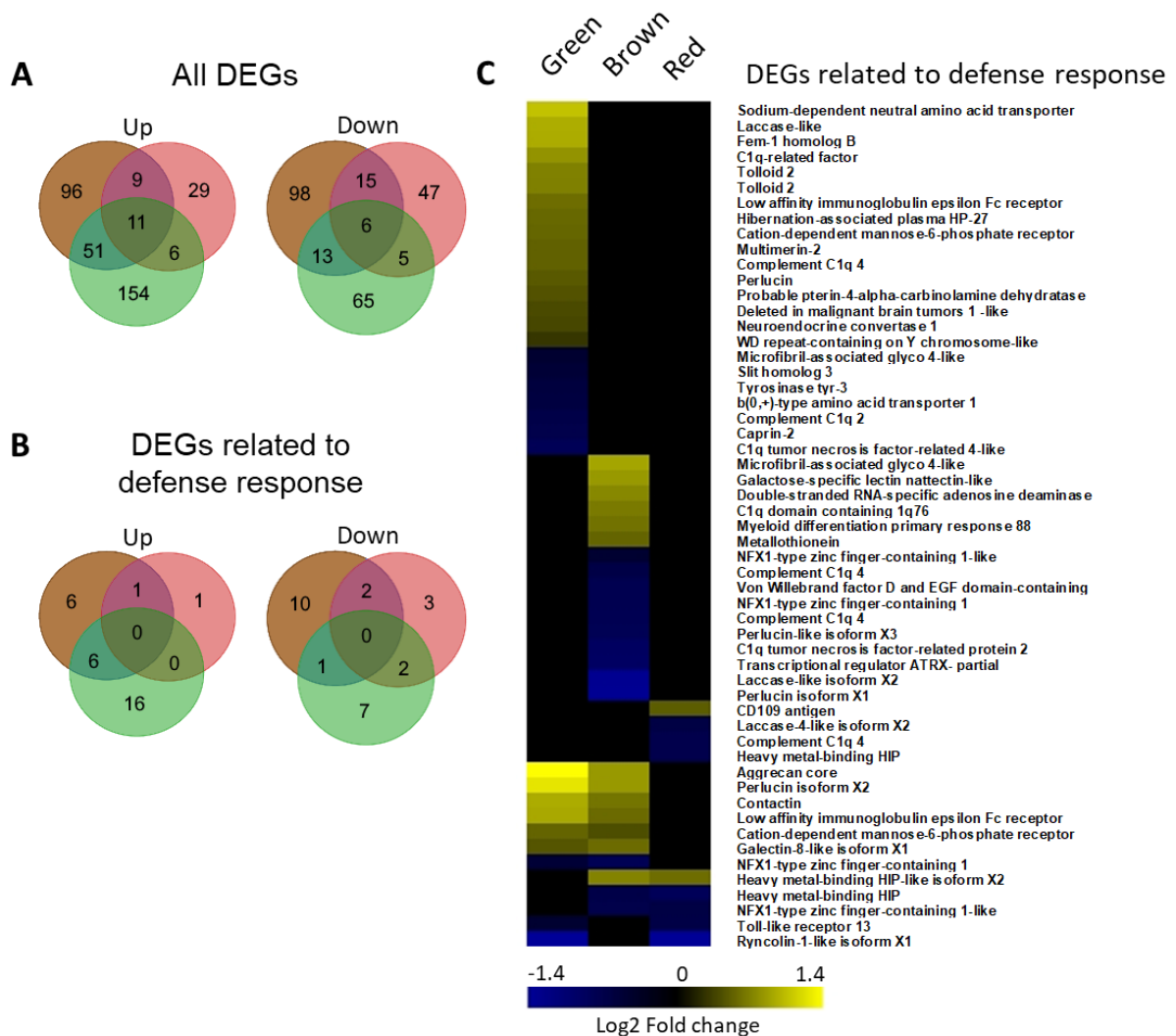
Complementary quantitative PCR analyses were performed to quantify total bacteria in oysters maintained under the different conditions (Figure S9). No differences were observed in total bacterial abundance between conditions during the acclimation phase.

### III.3. Oyster transcriptome response

We compared the transcriptomic response of oysters acclimated to green, brown and red algae with that of controls. We sequenced 12 samples that yielded between 25 and 30 million Illumina single-end reads of 75 bp per sample. Between 96.4% and 96.9% of these reads mapped to the *C. gigas* V9 reference genome and were used for identification of differential expressed genes (DEGs). The transcriptome of oysters in contact with algae was modified compared to untreated controls (Figure 4A). We found 311 DEGs (222 over-expressed) in oysters acclimated to green algae vs. control oysters, compared to 299 and 128 DEGs in those held with brown and red algae respectively (167 and 55 over-expressed respectively, Figure 4A and Supplementary data in Dugeny et al., 2021). DEGs were predominantly specific to each seaweed, very few DEGs were shared among all conditions.

Functional analyses of DEGs by condition showed that the defense response was the only category of biological process that was enriched in the three conditions. Defense response category was the second over-represented category in oysters acclimated to green algae, the first over-represented category in oysters acclimated to red algae and was found under “RNA secondary structure unwinding” category in oysters acclimated to brown algae (Figure S7). As observed for all DEGs, the number of DEGs related to defense response was the highest in oysters acclimated to green algae (32, 22 up-regulated), intermediate in oysters held with brown algae (26, 13 up-regulated) and the lowest in oysters acclimated to red algae (9, 2 up-regulated) (Figure 4B). No common DEG for this category was identified between the three

conditions. In oyster acclimated to green algae, the DEGs related to defense response were mainly associated to potential immune recognition proteins like complement C1q, C- and P-lectin (Perlucin and cation-dependent mannose-6-phosphate receptor), tolloid-like, scavenger receptor (Deleted in malignant brain tumors 1 –like) and low affinity immunoglobulin epsilon Fc receptor and to enzymes like laccase and tyrosinase (Figure 4C, Supplementary data in Dugeny et al., 2021).



**Figure 4.** Transcriptomic response of oysters. Venn diagrams of all DEGs (A) and DEGs related to defense (B) relatives to control oysters. (C) Heatmaps of the enriched GO categories for DEGs related to defenses (log2 Foldchange, p-adj < 0.05). The intensity of the enrichment is expressed as the ratio between the number of genes that were up (yellow heat) or down (blue heat) regulated compared with the total number of genes in the category. If the intensity was equal to zero (black heat), then the enrichment was not significant.

In addition, DEGs related to defense response were mainly associated, in term of molecular function, to binding function to carbohydrate, calcium ion, metal ion, zinc ion, protein, copper ion, TIR domain, RNA and DNA (Figure S7).

#### III.4. Gross physiology

We measured host growth, food ingestion, energy reserves and trophic indicators, to investigate potential confounders. None of these parameters were affected by seaweed (Figure S8 and S10). At the onset of the virus exposure, total body mass and energy reserves (lipid, TAG/ST) and food ingestion were similar among conditions. Also, fatty acid compositions of green, brown and red algae were different and did not reflect in the neutral lipid of oysters, suggesting that seaweeds did not contribute to their food regime.

#### IV. Discussion

Here we showed that different species of seaweeds can positively or negatively influence the risk of disease in oysters by shaping their bacterial microbiota and their immune response. Although seaweed and oysters do not have direct ecological interactions, they are connected by seawater and share microbes. Our study therefore extends the concept of pathobiome beyond recognized pathogens to other ecosystem components, and contributes to establishing a community perspective of host-pathogen interactions (Dittami et al., 2021). These results are therefore important to better understand the risk of disease in marine ecosystems. The study framework developed here can be applied to other analogous systems of interaction than the specific one of algae and oysters, such as those particularly threatened by diseases including corals, amphibians and farmed organisms.

We found that green algae belonging to the genus *Ulva spp.* increased mortality and virus proliferation in the host, induced early dysbiosis of the host's bacterial microbiota and



overexpression of genes involved in defense response. Although field studies showed that the proliferation of green algae has dramatic impacts on macro-zoobenthic and microbial communities (Quillien et al., 2015; Wang et al., 2020), no studies to date have established a link with the POMS or other marine diseases. Our results suggest that the rising tide of green algal bloom worldwide due to human-induced eutrophication (Ye et al., 2011; Smetacek and Zingone, 2013) may have consequences on oyster-pathogen interactions and disease risk. More broadly, our results are in agreement with the fact that environmental and human-mediated disturbances of natural ecosystems can shape bacterial pathobiomes and promote the emergence of diseases (Vayssier-Taussat et al., 2014). For instance, invasive exotic annual grasses can indirectly increase barley and cereal yellow dwarf virus disease incidence in California native perennial bunchgrasses (Malmstrom et al., 2005).

Our results on oysters differ from those obtained on shrimp *Litopenaeus vannamei*. Indeed, the green algae *Ulva lactuca* positively influence their microbiota (Mangott et al., 2020) and improve their resistance to bacterial and viral diseases through immune and anti-oxidant responses (Anaya-Rosas et al., 2019). This discrepancy, which possibly reflect specific differences between host organisms and their immune defense mechanisms, underscores the importance of developing this study framework on other species.

Analysis of total bacteria in our samples reveals no proliferation during the acclimation phase, which suggests that the dysbiosis occurring with green algae was not due to bacteraemia. However, small scale infection by opportunistic or pathogen bacteria may have low effect on total bacteria abundance and on host physiology, until the virus exposure leads to an immunodepression of the host. Here, dysbiosis in oysters acclimated to green algae *Ulva spp.* consisted of an increase in bacterial diversity, a decrease relative abundance of bacteria from

the *Mollicutes* Class at the benefit of *Alphaproteobacteria*, and over-representation of the *Rhodobacteraceae* family. Although bacterial diversity is often associated with better health of the host community, this is not always the case (Bass et al., 2019). According to the intermediate disturbance hypothesis (Connell, 1978), disturbance of intermediate intensity may increase biodiversity in animal and plant communities, as it allows species with multiple selection strategies to coexist without exclusion (Connell, 1978; Sousa, 1979). This might also apply to bacteria communities (Buckling et al., 2000) and may be the reason of increased bacterial diversity in oysters acclimated to green algae. Microbial diversity, connectivity and the presence of certain keystone species has been linked with host health in the past (Dai et al., 2020). Tissue damage from infections can promote colonization by a wide variety of opportunistic bacteria from the surrounding environment. This is what happens during OSHV-1 infection (see de Lorgeril et al., 2018, Lucasson et al., 2020, and this study), and in other diseases affecting corals (Closek et al., 2014; Roder et al., 2014). The shift in the relative abundance of *Mollicutes* at the benefit of *Alphaproteobacteria* has never been reported before. In contrast, *Mollicutes* can be more abundant in diseased oysters than in healthy ones but not always (King et al., 2019; Clerissi et al., 2020). This agrees with the 'Anna Karenina principle' for animal microbiomes, in which dysbiotic individuals vary more in microbial community composition than healthy individuals (Zaneveld et al., 2017). The potential role of bacteria from the *Rhodobacteraceae* family remains unclear. These bacteria have been associated to juvenile oyster disease (Boettcher et al., 2005) but also with resistance to POMS (Clerissi et al., 2020).

During infection, the relative abundance of 4 OTUs belonging to genera *Poseidonocella*, *Aureispira*, *Roseovarius* and *Olleya* increased under all conditions, suggesting that these bacterial genera are involved in the secondary phase of POMS, i.e. colonization by

opportunistic bacterial pathogens leading to the death of oysters (de Lorgeril et al., 2018). *Poseidonocella* and *Olleya* were over-represented in green algae and in the oysters during acclimation and may have increased susceptibility to POMS. During infection we observed in oysters acclimated to green algae an increase of the relative abundance of *Vibrio*, a genus of bacteria previously associated POMS (Petton et al., 2015; de Lorgeril et al., 2018; King et al., 2019b; Clerissi et al., 2020). However, we did not observe this increase in oysters held with red and brown algae. Bacterial genera differentially expressed in our study are different from the study of de Lorgeril et al. 2018, except for *Vibrio* that remains common in both works. The differences in the genera differentially represented in the two studies are probably related to the different method of infection and differing experimental conditions. Both experimental infection protocols consisted of a cohabitation between donor *C. gigas* oysters carrying the disease and 'pathogen-free' recipient *C. gigas* oyster. However, in de Lorgeril et al. 2018, donors were deployed in a farming area during the infectious period until the first mortalities occurred and were then transferred back to the laboratory and placed in contact with 'pathogen-free' recipient oysters in a controlled environment. Some bacterial genera emerge during the infection due to exposure with these infected oysters in a natural environment. In our case, the donors used were SPF oysters that were infected by direct injection of a viral suspension of OshV-1 in the laboratory. Thus, the bacterial communities of these donors were different from those deployed in the field.

Although dysbiosis clearly appeared in oysters acclimated to green algae, a causal relationship with viral proliferation in the host and increased mortality was not established. However, transcriptomic analysis revealed that oysters acclimated to green algae overexpressed genes primarily related to the defense mechanism. Among these genes, we found laccase and tyrosinase, two enzymes of the phenoloxidase system involved in immune, antioxidant and

detoxification responses in bivalves that potentially have a protective role against bacterial infection (Luna-Acosta et al., 2010; Quinn et al., 2020). Therefore, transcriptomic analysis supports dysbiosis as a major consequence for oysters held with green algae.

More broadly, the transcriptomic analysis reveals that the number of differentially expressed genes (DEGs), including those related to the defense response, was highest in oysters acclimated to green algae, intermediate in oysters maintained with brown algae and lowest in oysters acclimated to red algae. Therefore, the number of DEGs seems to be associated with the risk of disease-induced mortality according to the different types of algae and is a good indicator of stress.

We further observe that red algae have a positive but weak effect on oyster survival. Considering that the statistical power is low, the experiment should be repeated with a higher number of replications.

In conclusion, the present work show that algae can alter the bacterial microbiota, immune status and disease outcome of oysters, thus highlighting the importance of considering macro and microbiotic interactions in disease, ecosystem and farm management. These considerations are particularly applicable to the development of integrated multi-trophic aquaculture, co-culture, or any other practice that relies on increasing biological diversity to increase resilience in marine ecosystem (see for example Groner et al., 2018; Falkenberg et al., 2021). We however suggest that future research should evaluate these interactions in natural field condition where oysters, OSHV-1 and seaweeds coexist.

## V. Supplementary information

### V.1. File S1. Laboratory analyses

#### V.1.1) *Quantification of OsHV-1*

Total DNA was extracted from oyster and seawater samples with a QIAamp tissue mini kit (Qiagen) according to the manufacturer's protocol. The extracts were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  before detection and quantification using a realtime PCR protocol (Taqman, Martenot et al., 2011). The method used in our study was the recommended method for reasons of availability, utility and diagnostic specificity and sensitivity for OsHV-1 detection (<http://www.oie.int/en/standard-setting/aquatic-code/access-online/>). Virus detection and quantification analyses were conducted by Laboce, a French public diagnostic laboratory (Quimper, France), in compliance with approved quality management system ISO 17025 and COFRAC. In 2009, the OsHV-1  $\mu\text{Var}$  had fully replaced the reference OsHV-1 genotype in oysters presenting mortality at all French oyster production sites (Segarra et al., 2010; Martenot et al., 2011 ; Renault et al., 2012).

#### V.1.2) *Lipid classes*

Powder aliquots of oysters (150 mg) were placed in amber glass vials filled with 3 ml chloroformmethanol (2:1 v/v) and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until use. Just before the analysis, the samples were sonicated for 5 min and centrifuged for 2 min at 1000 rpm. Neutral lipid classes were analyzed by HPTLC (high performance thin layer chromatography) using a CAMAG system (Chromacim SAS, Moirans, France), consisting of a sampler (TLC Sampler 4) and a reader (TLC Scanner 3). Silica plates (HPTLC plates silica gel 60, 10\*20 cm, Merck) previously conditioned with a 1:1 hexane-diethyl ether mixture were activated for 30 minutes at  $120^{\circ}\text{C}$ . Samples were spotted on silica plates using a CAMAG automatic sampler, and the plates were eluted in solvents of increasing polarities. Lipid classes were separated using hexane-diethyl

ether-acetic acid (20:5:0.5, v/v/v) followed by hexane-diethyl ether (97:3, v/v). The lipid classes appeared as black marks after the silica plates had been soaked in a solution of copper sulphate (3 %) - orthophosphoric acid (8 %) and heated to 120 °C for 20 minutes. To quantify the lipid classes, a mixture of standards was deposited on each plate. This mixture of standards was prepared in similar proportions to those found in the neutral lipids of oysters: 58 % menhaden oil for the triglycerides, 14 % cholesterol for the sterols, 3 % 1-octadecanol for the alcohols, 10 % cholesterol palmitate for the sterol esters, 13 % 1-O hexadecyl-2,3 dipalmitoyl-rac-glycerol for the glyceride ethers and 2 % stearic acid for the free fatty acids. Results were obtained by making readings at 370 nm and quantifying the marks with the Wincats program. Identified compounds were sterols (ST;  $\mu\text{g mg}^{-1}$  tissues) and triacylglycerol (TAG;  $\mu\text{g mg}^{-1}$  tissues). Since TAG are mainly reserve lipids and ST are structural constituents of cell membranes, we used the TAG/ST ratio as a proxy for the relative contribution of reserve to structure, as reported in larvae of marine invertebrates (Fraser, 1989).

### V.1.3) *Fatty acids*

For oysters, an aliquot of the chloroform-methanol (2:1 v/v) was evaporated to dryness and recovered with three 500 mL washings of  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (98:2 v/v). The samples were placed at the top of a silica gel microcolumn (30 × 5 mm internal diameter; Kieselgel; 70–230 mesh [Merck, Lyon, France]; previously heated to 450°C and deactivated with 5% water). The neutral lipids were eluted with 10 mL  $\text{CHCl}_3$ -MeOH mixture (98:2 v/v). For algae, powder (150 mg) was placed in amber glass vials filled with 3 ml chloroform-methanol (2:1 v/v) and stored at -20 °C until analyses. A known amount of 23:0 fatty acid was added as an internal standard in all samples.

Neutral lipids of oysters and bulk lipids of macroalgae were transesterified with methanolic H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at 100°C as described in Couturier et al., 2020 and analysed in a HP6890 gas-chromatography system (Hewlett-Packard) equipped with a DB-Wax capillary column (30 m × 0.25 mm; 0.25 µm film thickness; Agilent technologies). Hydrogen was used as the carrier gas. Peaks were analyzed by comparison with those of a standard 37 component FAME mix (Supelco® 37, Merck) together with other known FAME mixes from marine invertebrates. Each fatty acid was expressed as the peak area percentage of the total fatty acid content. Fatty acid profile of macroalgae and oysters were compared using principal components analysis.

V.2. File S2. Tables and figures

**Table S1.** Logistic regression model for OsHV-1 prevalence data in oysters.

Condition	dF	Estimate	SE	Z value	P
Brown algae	1	8.070e-15	1.464	0	1
Green algae	1	2.506	1.157	2.165	<b>0.030</b>
Red algae	1	1.253	1.220	1.027	0.304
Control	0				

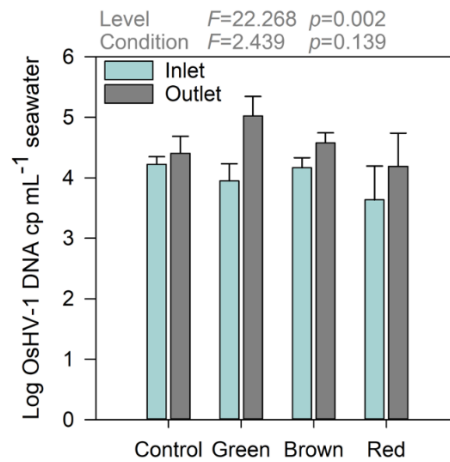
**Table S2.** Two-way PERMANOVAs testing the effect of condition, time and their mutual interaction on bacterial microbiota of algae and oysters.

	DF	Sum of Square	Mean Square	F	R <sup>2</sup>	P
<b>Algae</b>						
Time (5, 12, 14 d)	2	0.123	0.123	0.893	0.012	0.468
Condition	2	5.373	2.686	19.533	0.548	<b>0.001</b>
Time * Condition	2	0.184	0.092	0.670	0.019	0.784
<b>Oysters</b>						
Time (5, 12, 14, 17 d)	3	2.754	0.918	12.928	0.366	<b>0.001</b>
Condition	3	1.647	0.549	7.732	0.219	<b>0.001</b>
Time * Condition	8	0.993	0.124	1.748	0.132	<b>0.014</b>

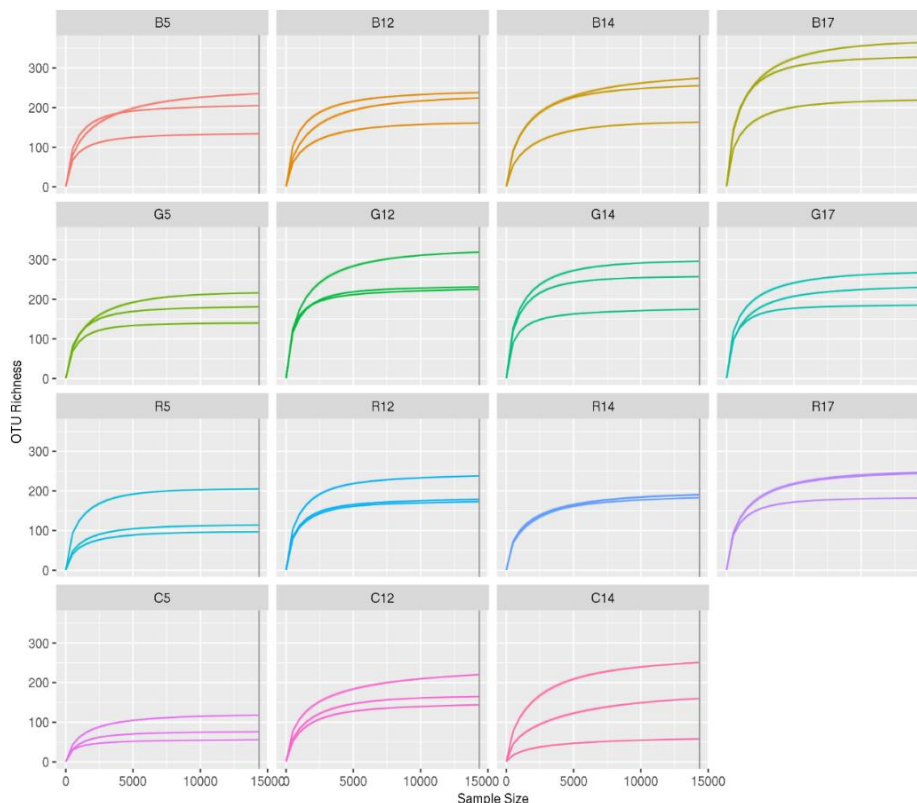
**Table S3.** Two-way PERMANOVA pairwise comparisons between conditions on bacterial microbiota of oysters acclimated for 12-14 d and exposed to OsHV-1 (17 d).

Pairwise				
<b>Acclimation</b>	Brown algae	Green algae	Red algae	Control
Green algae	<b>0.005</b>			
Red algae	0.269	<b>0.002</b>		
Control	0.065	<b>0.001</b>	<b>0.047</b>	
<b>Virus exposure</b>				
Brown algae	<b>0.017</b>			
Green algae		<b>0.016</b>		
Red algae			<b>0.010</b>	

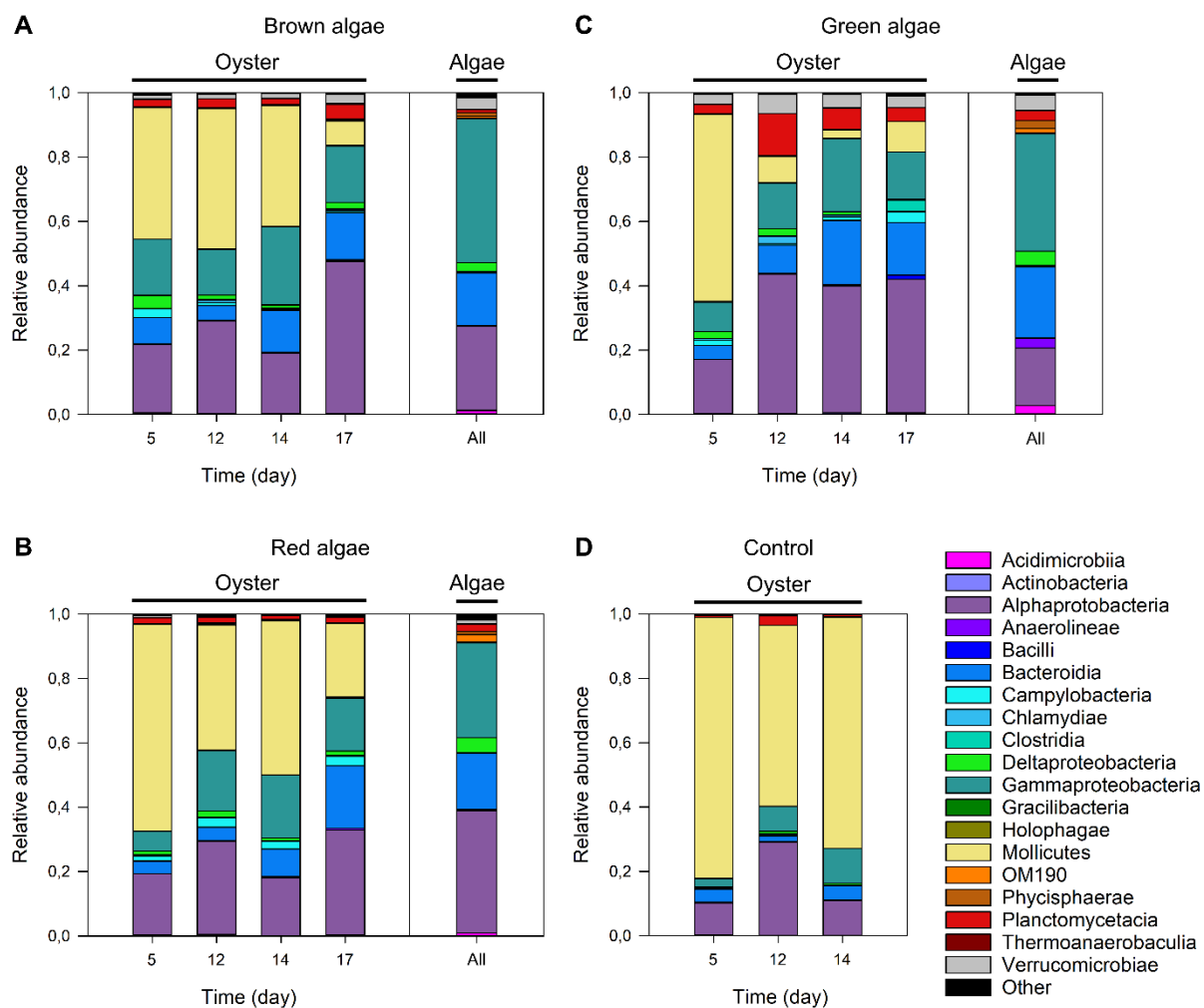




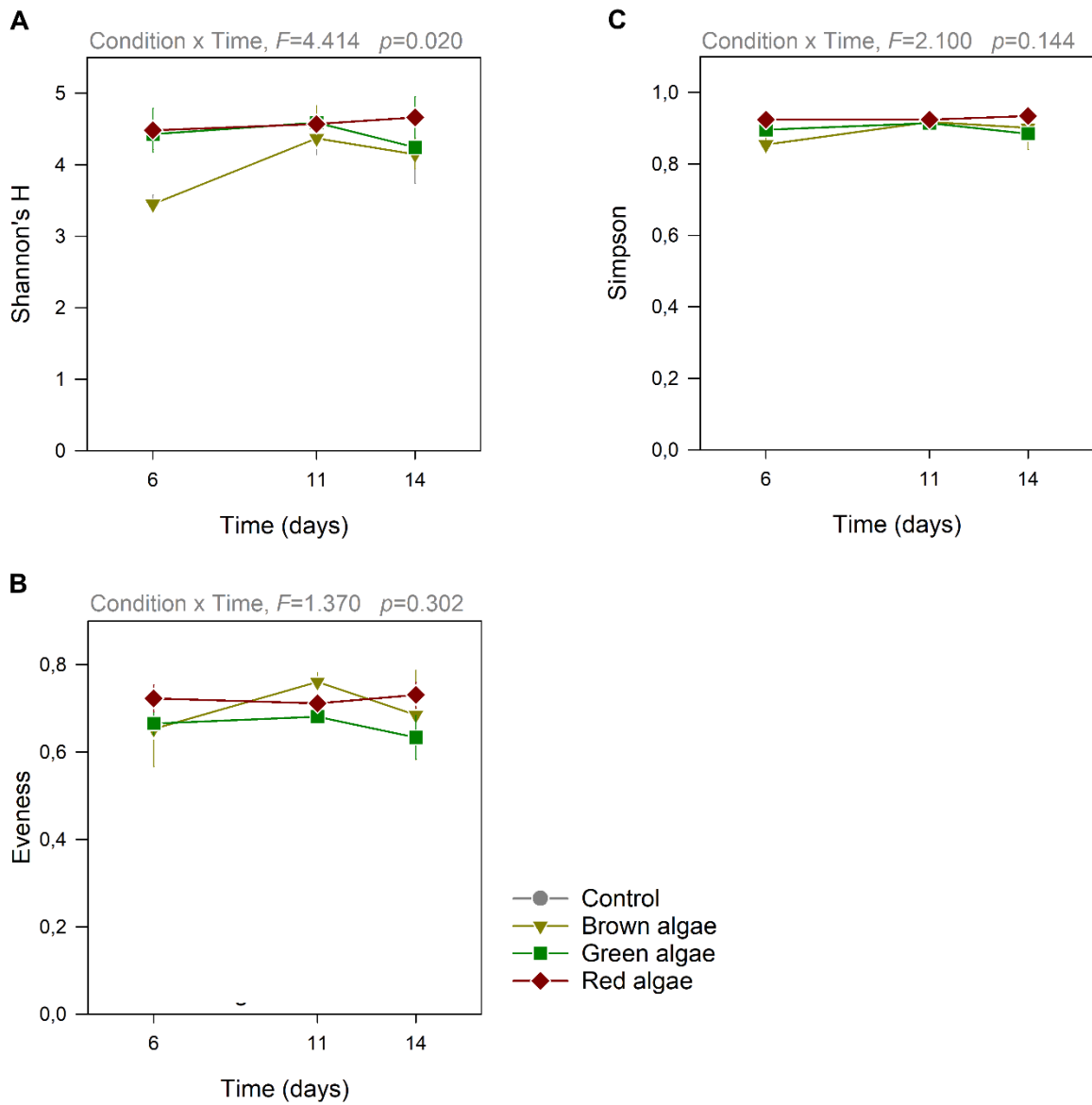
**Figure S1.** OsHV-1 DNA detection in seawater 72 hpi at the inlet and outlet of tanks containing the oysters. Data are means  $\pm$  SD, n=3 replicate tanks. General linear mixed model (GLMM, split-split-plot) was used to determine the effect of condition, level and sampling time (repeated measurement) on the virus concentration in the seawater at the outlet of the tanks containing the seaweed and containing the oysters with tank as random factor. The normality of residuals and homogeneity of variance was graphically checked, and data were log10 transformed to meet the normality assumption where necessary.



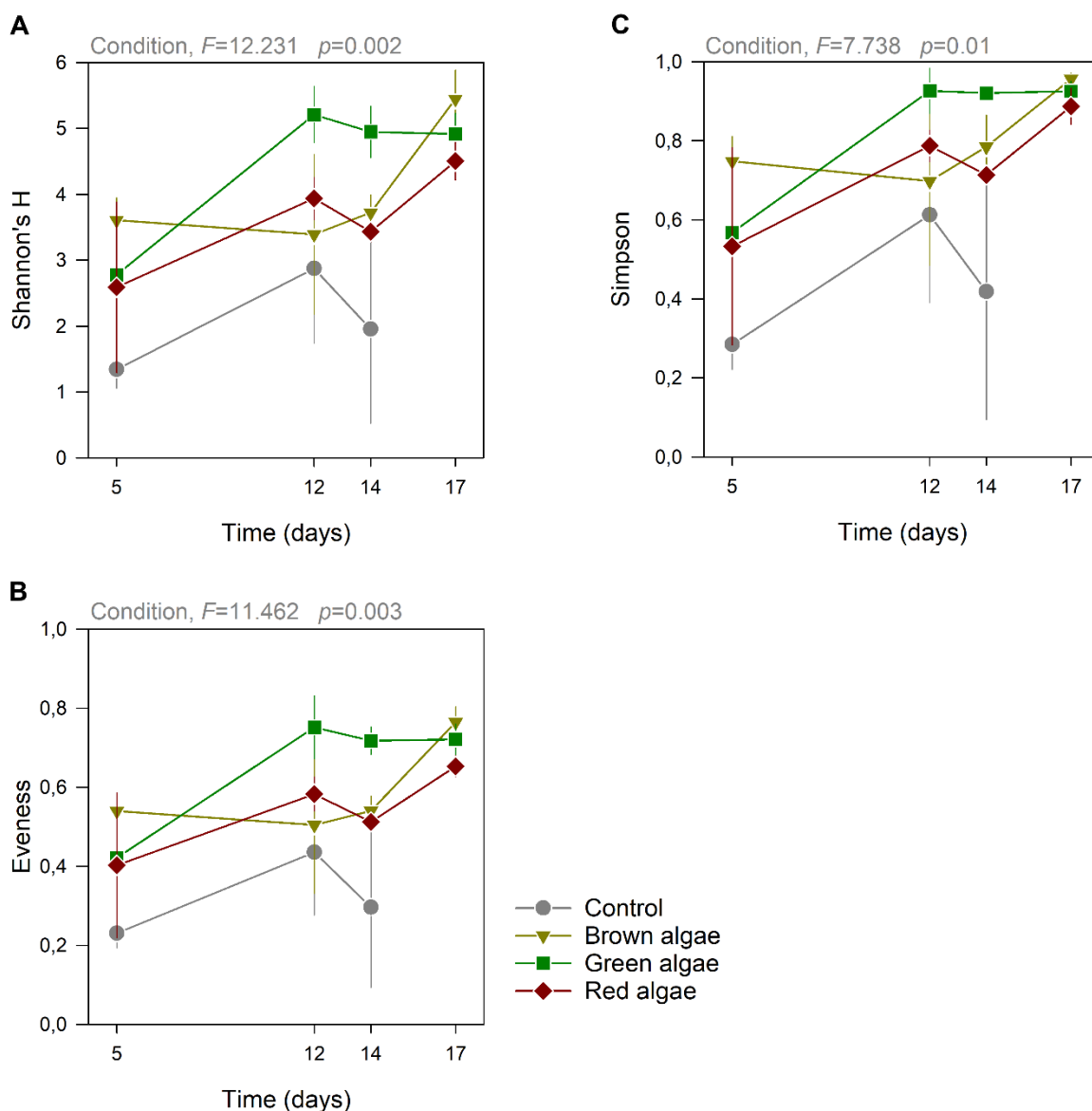
**Figure S2.** Richness rarefaction curves of the sub-sampled 16S rDNA genes dataset (14000 reads per sample) for oysters showing the number of OTUs as a function of the number of sequences analyzed (sample size). Letters correspond to the different conditions (Brown algae B, Green algae G, Red algae R and Control C) and numbers correspond to days (5, 12 and 14 for acclimation period and 17 for 72hpi) during the kinetics of the experiment. Triplicate results are shown for each time point.



**Figure S3.** Relative abundance of bacteria (class level) in oysters acclimated with brown algae (A), red algae (B), green algae (C) and controls (D), and in algae (data are averages among times during acclimation). X-axis corresponds to the sampling times during the acclimation phase and the virus exposure.

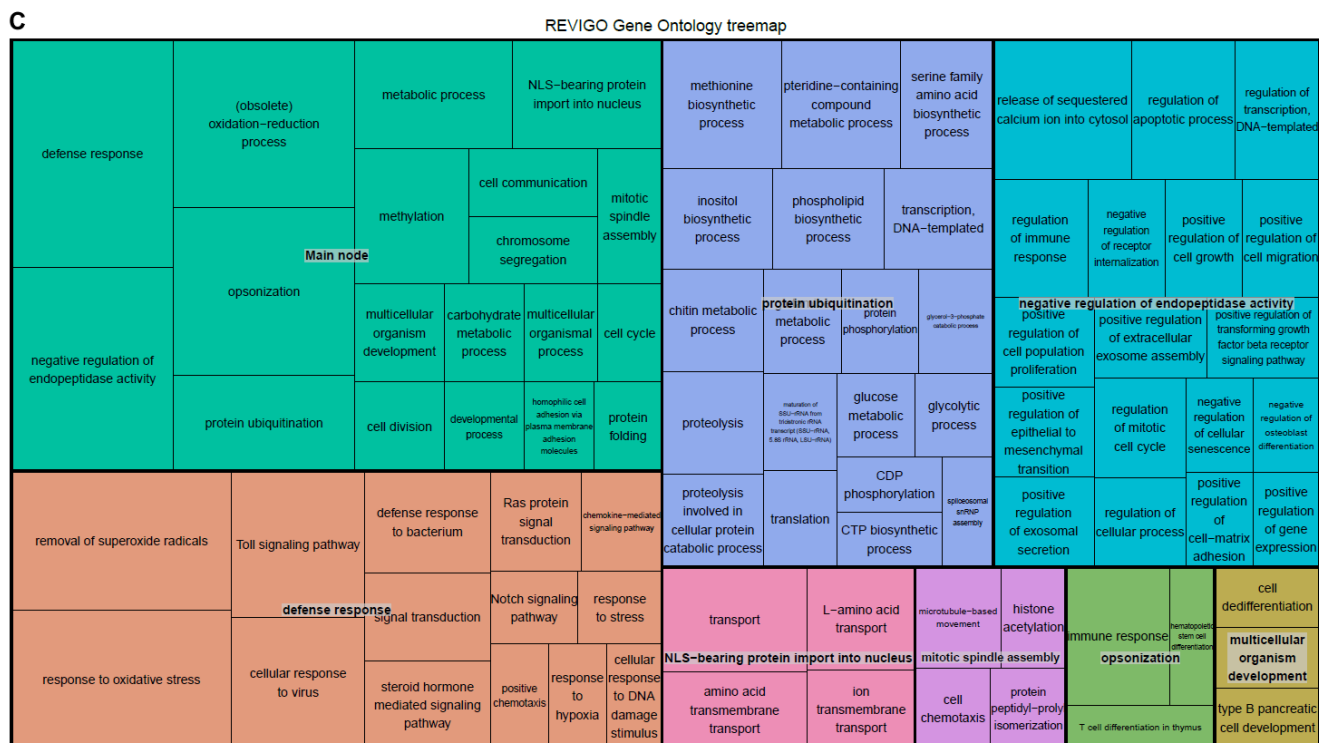


**Figure S4.** Temporal dynamics of alpha diversity in algae during acclimation considering different diversity indices: Shannon index (**A**), Pielou's evenness (**B**) and Simpson index (**C**). The data are means  $\pm$  SD ( $n=3$ ).

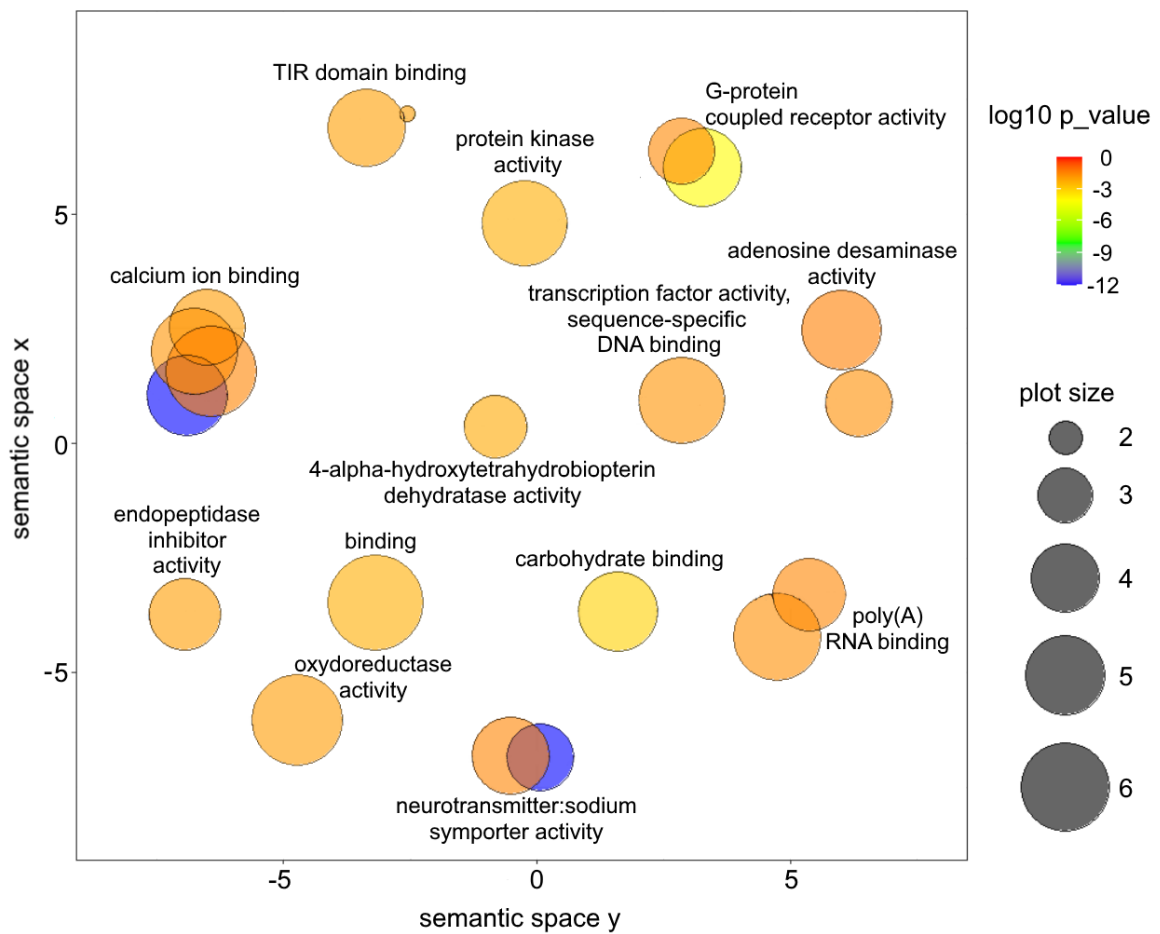


**Figure S5.** Temporal dynamics of alpha diversity in oysters during the acclimation period and virus exposure, considering different diversity indices: Shannon index (**A**), Pielou's evenness (**B**) and Simpson index (**C**). The data are means  $\pm$  SD ( $n=3$  pools of 5 oysters).



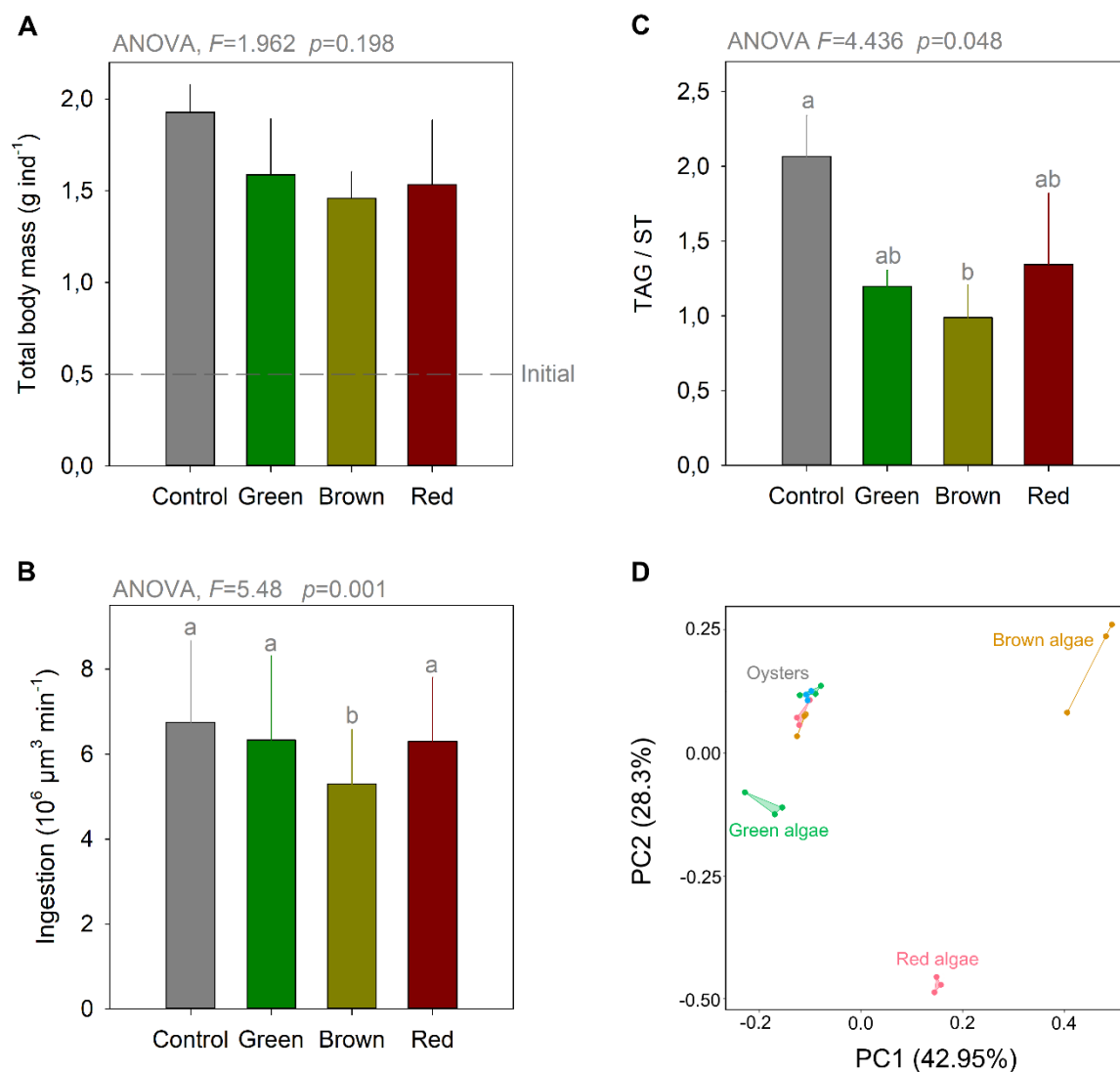


**Figure S6.** Hierarchical treemaps of biological process enriched in oysters acclimated to green, brown and red algae. The first four enriched process were for **(A)** green algae: regulation of immune response, defense response, positive regulation of catalytic activity and neurotransmitter transport, **(B)** brown algae: RNA secondary structure unwinding (containing defense response), positive regulation of DNA-templated transcription, protein ubiquitination and amino acid transmembrane transport and **(C)** red algae: defense response, protein ubiquitination, negative regulation of endopeptidase activity and NLS-bearing protein import into nucleus.



GO term	Name
GO:0005328	neurotransmitter:sodium symporter activity
GO:0005488	binding
GO:0030246	carbohydrate binding
GO:0004930	G protein-coupled receptor activity
GO:0004252	serine-type endopeptidase activity
GO:0008124	4-alpha-hydroxytetrahydrobiopterin dehydratase activity
GO:0070976	TIR domain binding
GO:0016491	oxidoreductase activity
GO:0005509	calcium ion binding
GO:0003723	RNA binding
GO:0005044	scavenger receptor activity
GO:0004000	adenosine deaminase activity
GO:0004866	endopeptidase inhibitor activity
GO:0005507	copper ion binding
GO:0042802	identical protein binding
GO:0015171	amino acid transmembrane transporter activity
GO:0003700	DNA-binding transcription factor activity
GO:0046872	metal ion binding
GO:0004672	protein kinase activity
GO:0008270	zinc ion binding

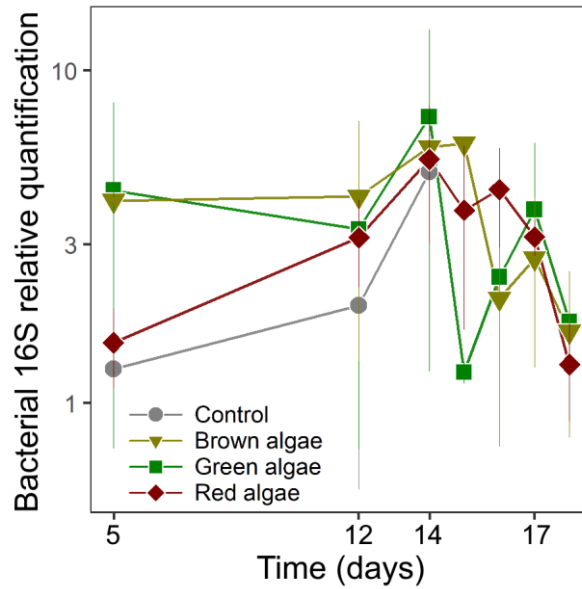
**Figure S7.** Scatterplots of molecular functions of DEGs related to defense response in oysters after 14 d of acclimation, highlighting binding functions. Gene ontology terms are indicated in the table.



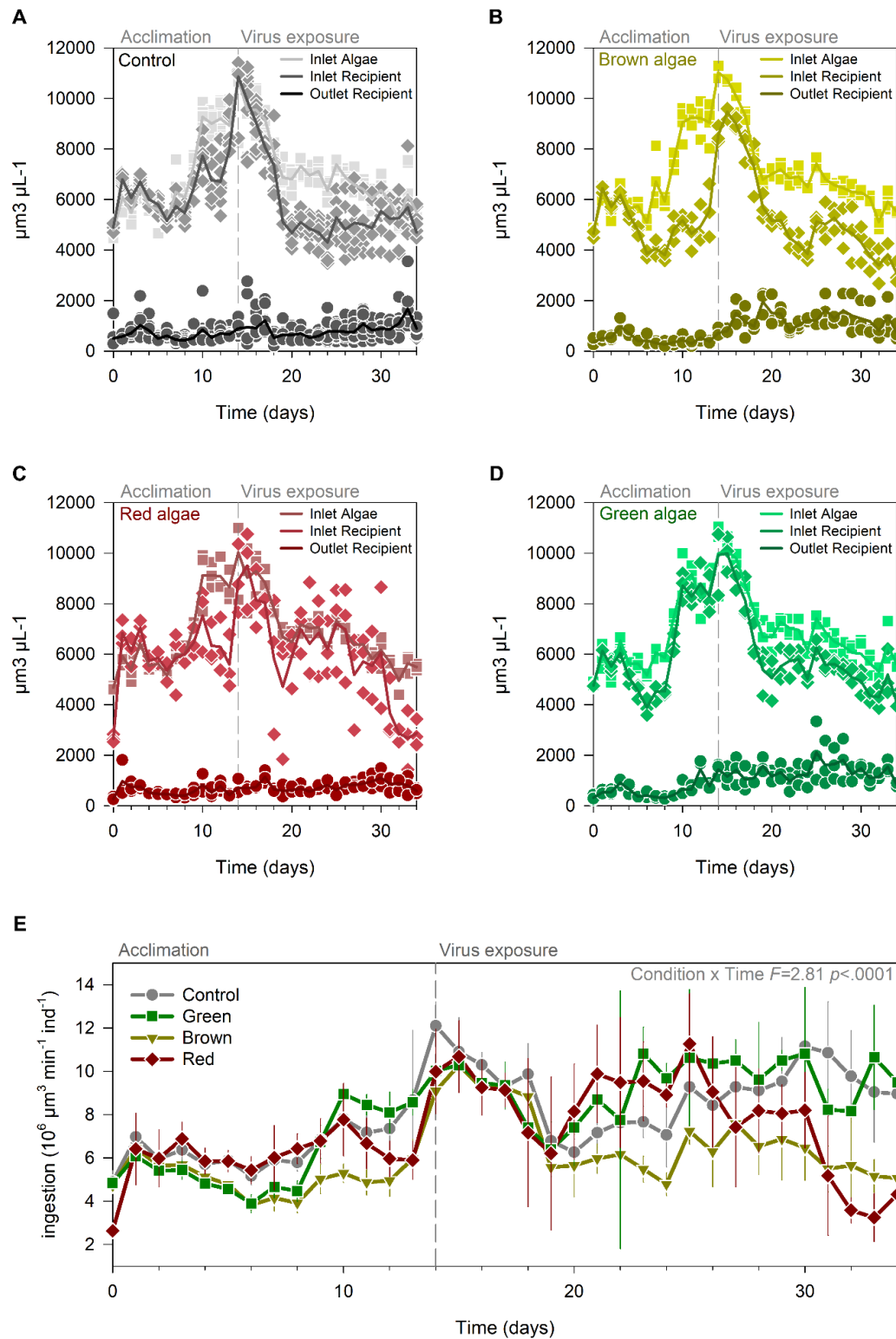
**Figure S8.** Total body mass (A), ingestion rates (B) and lipid reserves (TAG/ST) of oysters (C). Principal component analysis of fatty acids in macroalgae and oysters at the end of the acclimation period (14d, D). Symbol color correspond to that of macroalgae. Letters indicate statistically significant differences. Data are means ± SD, n=3 replicate tanks.



Complementary analysis



**Figure S9.** Relative quantification of total bacteria in oysters maintained in different conditions with Brown, Green or Red seaweeds or without seaweed (controls). Abundances were measured by qPCR. Dots represents distinct pools of 5 oysters. The data are means  $\pm$  SD (n=3 pools of 5 oysters).



**Figure S10.** Phytoplankton concentrations ( $\mu\text{m}^3 \mu\text{L}^{-1}$  in levels 2 and 3) and ingestion rates. Average concentration of microalgae measured in the inlet of test tanks and the outlet of recipient tanks for Control (A), Brown algae (B), Red algae (C) and Green algae (D) during the experiment. Ingestion rate mean per individual in each condition (E). Data are means  $\pm$  SD,  $n=3$  replicate tanks.

## VI. References

- Anaya-Rosas, R.E., Rivas-Vega, M.E., Miranda-Baeza, A., Piña-Valdez, P., Nieves-Soto, M., 2019. Effects of a co-culture of marine algae and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on the growth, survival and immune response of shrimp infected with *Vibrio parahaemolyticus* and white spot virus (WSSV). *Fish Shellfish Immunol.* 87, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.12.071>
- Anders, S., Pyl, P.T., Huber, W., 2015. HTSeq-A Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* 31, 166–169. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu638>
- Bass, D., Stentiford, G.D., Wang, H.C., Koskella, B., Tyler, C.R., 2019. The Pathobiome in Animal and Plant Diseases. *Trends Ecol. Evol.* <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.07.012>
- Ben-Horin, T., Bidegain, G., Huey, L., Narvaez, D.A., Bushek, D., 2015. Parasite transmission through suspension feeding. *J. Invertebr. Pathol.* 131, 155–176. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.006>
- Boettcher, K.J., Geaghan, K.K., Maloy, A.P., Barber, B.J., 2005. *Roseovarius crassostreae* sp. nov., a member of the *Roseobacter* clade and the apparent cause of juvenile oyster disease (JOD) in cultured Eastern oysters. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, 1531–1537. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63620-0>
- Buckling, A., Kassen, R., Bell, G., Rainey, P.B., 2000. Disturbance and diversity in experimental microcosms. *Nat.* 2000 4086815 408, 961–964. <https://doi.org/10.1038/35050080>
- Clerissi, C., de Lorgeril, J., Petton, B., Lucasson, A., Escoubas, J.-M., Gueguen, Y., Dégremont, L., Mitta, G., Toulza, E., 2020. Microbiota Composition and Evenness Predict Survival Rate of Oysters Confronted to Pacific Oyster Mortality Syndrome. *Front. Microbiol.* 11, 311. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00311>
- Closek, C.J., Sunagawa, S., Desalvo, M.K., Piceno, Y.M., Desantis, T.Z., Brodie, E.L., Weber, M.X., Voolstra, C.R., Andersen, G.L., Medina, M., 2014. Coral transcriptome and bacterial community profiles reveal distinct Yellow Band Disease states in *Orbicella faveolata*. *ISME J.* 8, 2411–2422. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.85>
- Conesa, A., Gotz, S., Garcia-Gomez, J.M., Terol, J., Talon, M., Robles, M., 2005. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics* 21, 3674–3676. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti610>
- Connell, J.H., 1978. Diversity in Tropical Rain Forests and Coral Reefs. *Science* (80- ). 199, 1302–1310. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.199.4335.1302>
- Cory, J.S., Deschodt, P.S., 2017. The Biotic Environment, in: *Ecology of Invertebrates Disease*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, pp. 187–212. <https://doi.org/10.1002/9781119256106.ch6>
- Couturier, L.I.E., Michel, L.N., Amaro, T., Budge, S.M., da Costa, E., De Troch, M., Di Dato, V., Fink, P., Giraldo, C., Le Grand, F., Loaiza, I., Mathieu-Resuge, M., Nichols, P.D., Parrish, C.C., Sardenne, F., Vagner, M., Pernet, F., Soudant, P., 2020. State of art and best practices for fatty acid analysis in aquatic sciences. *ICES J. Mar. Sci.* 77, 2375–2395.

<https://doi.org/10.1093/icesjms/fsaa121>

- Dai, W., Sheng, Z., Chen, J., Xiong, J., 2020. Shrimp disease progression increases the gut bacterial network complexity and abundances of keystone taxa. *Aquaculture* 517, 734802. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2019.734802>
- Dalsgaard, J., St. John, M., Kattner, G., Müller-Navarra, D., Hagen, W., 2003. Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Adv. Mar. Biol.* [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(03\)46005-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(03)46005-7)
- de Lorgeril, J., Lucasson, A., Petton, B., Toulza, E., Montagnani, C., Clerissi, C., Vidal-Dupiol, J., Chaparro, C., Galinier, R., Escoubas, J.-M., Haffner, P., Dégremont, L., Charrière, G.M., Lafont, M., Delort, A., Vergnes, A., Chiarello, M., Faury, N., Rubio, T., Leroy, M.A., Pérignon, A., Réglér, D., Morga, B., Alunno-Bruscia, M., Boudry, P., Le Roux, F., Destoumieux-Garzón, D., Gueguen, Y., Mitta, G., 2018. Immune-suppression by OsHV-1 viral infection causes fatal bacteraemia in Pacific oysters. *Nat. Commun.* 9, 4215. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06659-3>
- Dittami, S.M., Arboleda, E., Auguet, J.C., Bigalke, A., Briand, E., Cárdenas, P., Cardini, U., Decelle, J., Engelen, A.H., Eveillard, D., Gachon, C.M.M., Griffiths, S.M., Harder, T., Kayal, E., Kazamia, E., Lallier, F.H., Medina, M., Marzinelli, E.M., Morganti, T.M., Pons, L.N., Prado, S., Pintado, J., Saha, M., Selosse, M.A., Skillings, D., Stock, W., Sunagawa, S., Toulza, E., Vorobev, A., Leblanc, C., Not, F., 2021. A community perspective on the concept of marine holobionts: Current status, challenges, and future directions. *PeerJ* 9, e10911. <https://doi.org/10.7717/peerj.10911>
- Dobin, A., Davis, C.A., Schlesinger, F., Drenkow, J., Zaleski, C., Jha, S., Batut, P., Chaisson, M., Gingeras, T.R., 2013. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics* 29, 15–21. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts635>
- Dupont, S., Lokmer, A., Corre, E., Auguet, J.-C., Petton, B., Toulza, E., Montagnani, C., Tanguy, G., Pecqueur, D., Salmeron, C., Guillou, L., Desnues, C., Scola, B. La, Khalil, J.B., De Lorgeril, J., Mitta, G., Gueguen, Y., Escoubas, J.-M., 2019. Oyster hemolymph is a complex and dynamic ecosystem hosting bacteria, protists and viruses. *Anim. Microbiome* 2, 1–16. <https://doi.org/10.1186/S42523-020-00032-W>
- Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S., Thomas, T., 2013. The seaweed holobiont: understanding seaweed-bacteria interactions. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 462–476. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12011>
- Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Hernandez-Raquet, G., Combes, S., Pascal, G., 2018. FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution. *Bioinformatics* 34, 1287–1294. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx791>
- Falkenberg, L.J., Scanes, E., Ducker, J., Ross, P.M., 2021. Biotic habitats as refugia under ocean acidification. *Conserv. Physiol.* 9. <https://doi.org/10.1093/CONPHYS/COAB077>
- Floc’H, J.Y., Deslandes, E., Le Gall, Y.L., 1987. Evidence for Vegetative Propagation of the Carrageenophyte *Solieria chordalis* (Solieriaceae, Rhodophyceae) on the Coast of Brittany (France) and in Culture. *Bot. Mar.* 30, 315–322. <https://doi.org/10.1515/botm.1987.30.4.315>

- Fraser, A.J., 1989. Triacylglycerol Content as a Condition Index for Fish, Bivalve, and Crustacean Larvae. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46, 1868–1873. <https://doi.org/10.1139/f89-235>
- Goecks, J., Nekrutenko, A., Taylor, J., Afgan, E., Ananda, G., Baker, D., Blankenberg, D., Chakrabarty, R., Coraor, N., Goecks, J., Von Kuster, G., Lazarus, R., Li, K., Taylor, J., Vincent, K., 2010. Galaxy: a comprehensive approach for supporting accessible, reproducible, and transparent computational research in the life sciences. *Genome Biol.* 11, 1–13. <https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-8-r86>
- Groner, M.L., Burge, C.A., Cox, R., Rivlin, N.D., Turner, M., Van Alstyne, K.L., Wyllie-Echeverria, S., Bucci, J., Staudigel, P., Friedman, C.S., 2018. Oysters and eelgrass: potential partners in a high pCO<sub>2</sub> ocean. *Ecology* 99, 1802–1814. <https://doi.org/10.1002/ECY.2393>
- Hily, C., Jean, F., 1997. Macrobenthic biodiversity in intertidal habitats of the iroise biosphere reserve (Brittany, France). *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* 77, 311–323. <https://doi.org/10.1017/s0025315400071691>
- King, W.L., Jenkins, C., Go, J., Siboni, N., Seymour, J.R., Labbate, M., 2019a. Characterisation of the Pacific Oyster Microbiome During a Summer Mortality Event. *Microb. Ecol.* 77, 502–512. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1226-9>
- King, W.L., Jenkins, C., Seymour, J.R., Labbate, M., 2019b. Oyster disease in a changing environment: Decrypting the link between pathogen, microbiome and environment. *Mar. Environ. Res.* 143, 124–140. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.11.007>
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., Glöckner, F.O., 2013. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res.* 41, e1–e1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
- Lachnit, T., Meske, D., Wahl, M., Harder, T., Schmitz, R., 2011. Epibacterial community patterns on marine macroalgae are host-specific but temporally variable. *Environ. Microbiol.* 13, 655–665. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02371.x>
- Le Roux, F., Wegner, K.M., Polz, M.F., 2016. Oysters and Vibrios as a Model for Disease Dynamics in Wild Animals. *Trends Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.006>
- Lokmer, A., Mathias Wegner, K., 2015. Hemolymph microbiome of Pacific oysters in response to temperature, temperature stress and infection. *ISME J.* 9, 670–682. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.160>
- Lokmer, A., Wegner, K.M., Kuenzel, S., Baines, J.F., Wegner, K.M., 2016. The role of tissue-specific microbiota in initial establishment success of Pacific oysters. *Environ. Microbiol.* 18, 970–987. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13163>
- Love, M.I., Huber, W., Anders, S., 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 15, 1–21. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Lucasson, A., Luo, X., Mortaza, S., de Lorgeril, J., Toulza, E., Petton, B., Escoubas, J.M., Clerissi, C., Dégremont, L., Gueguen, Y., Destoumieux-Garzón, D., Jacq, A., Mitta, G., 2020. A core of functionally complementary bacteria colonizes oysters in Pacific Oyster Mortality Syndrome. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.11.16.384644>

- Luna-Acosta, A., Rosenfeld, E., Amari, M., Fruitier-Arnaudin, I., Bustamante, P., Thomas-Guyon, H., 2010. First evidence of laccase activity in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Fish Shellfish Immunol.* 28, 719–726. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.01.008>
- Magoč, T., Salzberg, S.L., 2011. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics* 27, 2957–2963. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr507>
- Mahé, F., Rognes, T., Quince, C., de Vargas, C., Dunthorn, M., 2014. Swarm: Robust and fast clustering method for amplicon-based studies. *PeerJ* 2014, 1–13. <https://doi.org/10.7717/peerj.593>
- Malmstrom, C.M., McCullough, A.J., Johnson, H.A., Newton, L.A., Borer, E.T., 2005. Invasive annual grasses indirectly increase virus incidence in California native perennial bunchgrasses. *Oecologia* 145, 153–164. <https://doi.org/10.1007/s00442-005-0099-z>
- Mangott, A., Nappi, J., Delli Paoli Carini, A., Goncalves, P., Hua, K., Domingos, J.A., de Nys, R., Thomas, T., 2020. *Ulva lactuca* as a functional ingredient and water bioremediator positively influences the hepatopancreas and water microbiota in the rearing of *Litopenaeus vannamei*. *Algal Res.* 51, 102040. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102040>
- Martenot, C., Oden, E., Travaille, E., Malas, J.P., Houssin, M., 2011. Detection of different variants of Ostreid Herpesvirus 1 in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* between 2008 and 2010. *Virus Res.* 160, 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.04.012>
- Martin, M., 2011. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *Tech. notes* 17, 10–12.
- McMurdie, P.J., Holmes, S., 2013. Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS One* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Morand, P., Merceron, M., 2005. Macroalgal population and sustainability. *J. Coast. Res.* 21, 1009–1020. <https://doi.org/10.2112/04-700A.1>
- Pathirana, E., Fuhrmann, M., Whittington, R., Hick, P., 2019. Influence of environment on the pathogenesis of Ostreid herpesvirus-1 (OsHV-1) infections in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) through differential microbiome responses. *Heliyon* 5, e02101. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02101>
- Pernet, F., Lagarde, F., Le Gall, P., Roque D'Orbcastel, E., Roque D'Orbcastel, E., 2014. Associations between farming practices and disease mortality of Pacific oyster *Crassostrea gigas* in a Mediterranean lagoon. *Aquac. Environ. Interact.* 5, 99–106. <https://doi.org/10.3354/aei00096>
- Pernet, F., Lugué, K., Petton, B., 2021. Competition for food reduces disease susceptibility in a marine invertebrate. *Ecosphere* 12, e03435. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3435>
- Pernet, F., Lupo, C., Bacher, C., Whittington, R.J., 2016. Infectious diseases in oyster aquaculture require a new integrated approach. *Philos. Trans. R. Soc. London B Biol. Sci.* 371.

- Pernet, F., Tamayo, D., Fuhrmann, M., Petton, B., 2019. Deciphering the effect of food availability, growth and host condition on disease susceptibility in a marine invertebrate. *J. Exp. Biol.* 222. <https://doi.org/10.1242/jeb.210534>
- Petton, B., Bruto, M., James, A., Labreuche, Y., Alumno-Bruscia, M., Le Roux, F., 2015. *Crassostrea gigas* mortality in France : the usual suspect , a herpes virus , may not be the killer in this polymicrobial opportunistic disease 6, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00686>
- Quillien, N., Nordström, M.C., Guyonnet, B., Maguer, M., Le Garrec, V., Bonsdorff, E., Grall, J., 2015. Large-scale effects of green tides on macrotidal sandy beaches: Habitat-specific responses of zoobenthos. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 164, 379–391. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.07.042>
- Quinn, E.A., Malkin, S.H., Rowley, A.F., Coates, C.J., 2020. Laccase and catecholoxidase activities contribute to innate immunity in slipper limpets, *Crepidula fornicata*. *Dev. Comp. Immunol.* 110, 103724. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2020.103724>
- Renault, T., Moreau, P., Faury, N., Pepin, J.-F., Segarra, A., Webb, S., 2012. Analysis of Clinical Ostreid Herpesvirus 1 (Malacoherpesviridae) Specimens by Sequencing Amplified Fragments from Three Virus Genome Areas. *J. Virol.* 86, 5942–5947. <https://doi.org/10.1128/jvi.06534-11>
- Roder, C., Arif, C., Bayer, T., Aranda, M., Daniels, C., Shibl, A., Chavanich, S., Voolstra, C.R., 2014. Bacterial profiling of White Plague Disease in a comparative coral species framework. *ISME J.* 8, 31–39. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.127>
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., Mahé, F., 2016. VSEARCH: A versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ* 2016, 1–22. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
- Schikorski, D., Faury, N., Pepin, J.F., Saulnier, D., Tourbiez, D., Renault, T., 2011. Experimental ostreid herpesvirus 1 infection of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: Kinetics of virus DNA detection by q-PCR in seawater and in oyster samples. *Virus Res.* 155, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.031>
- Segarra, A., Pépin, J.F., Arzul, I., Morga, B., Faury, N., Renault, T., 2010. Detection and description of a particular Ostreid herpesvirus 1 genotype associated with massive mortality outbreaks of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in France in 2008. *Virus Res.* 153, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.011>
- Singh, R.P., Reddy, C.R.K., 2014. Seaweed-microbial interactions: Key functions of seaweed-associated bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 88, 213–230. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12297>
- Smetacek, V., Zingone, A., 2013. Green and golden seaweed tides on the rise. *Nature.* <https://doi.org/10.1038/nature12860>
- Sousa, W.P., 1979. Disturbance in Marine Intertidal Boulder Fields: The Nonequilibrium Maintenance of Species Diversity. *Ecology* 60, 1225–1239. <https://doi.org/10.2307/1936969>
- Supek, F., Bošnjak, M., Škunca, N., Šmuc, T., 2011. REVIGO Summarizes and Visualizes Long Lists of Gene Ontology Terms. *PLoS One* 6, e21800.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021800>

- Suquet, M., Kermoyan, G. De, Araya, R.G., Queau, I., Lebrun, L., Souchu, P. Le, Mingant, C., 2009. Anesthesia in Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquat. Living Resour.* 22, 29–34. <https://doi.org/10.1051/alr/2009006>
- Sweet, M.J., Bulling, M.T., 2017. On the Importance of the Microbiome and Pathobiome in Coral Health and Disease. *Front. Mar. Sci.* 4, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00009>
- Vayssier-Taussat, M., Albina, E., Citti, C., Cosson, J.-F., Jacques, M.-A., Lebrun, M.-H., Le Loir, Y., Ogliastro, M., Petit, M.-A., Roumagnac, P., Candresse, T., 2014. Shifting the paradigm from pathogens to pathobiome: new concepts in the light of meta-omics. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 4, 29. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00029>
- Wang, J., Lu, J., Zhang, Y., Wu, J., 2020. Microbial ecology might serve as new indicator for the influence of green tide on the coastal water quality: Assessment the bioturbation of *Ulva prolifera* outbreak on bacterial community in coastal waters. *Ecol. Indic.* 113, 106211. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106211>
- Wegner, K.M., Volkenborn, N., Peter, H., Eiler, A., 2013. Disturbance induced decoupling between host genetics and composition of the associated microbiome. *BMC Microbiol.* 13, 252. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-252>
- Ye, N. hao, Zhang, X. wen, Mao, Y. ze, Liang, C. wei, Xu, D., Zou, J., Zhuang, Z. meng, Wang, Q. yin, 2011. “Green tides” are overwhelming the coastline of our blue planet: Taking the world’s largest example. *Ecol. Res.* <https://doi.org/10.1007/s11284-011-0821-8>
- Zaneveld, J.R., McMinds, R., Thurber, R.V., 2017. Stress and stability: Applying the Anna Karenina principle to animal microbiomes. *Nat. Microbiol.* <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.121>
- Zhang, Guofan, Fang, X., Guo, X., Li, L., Luo, R., Xu, F., Yang, P., Zhang, L., Wang, X., Qi, H., Xiong, Z., Que, H., Xie, Y., Holland, P.W.H., Paps, J., Zhu, Y., Wu, F., Chen, Y., Wang, Jiafeng, Peng, C., Meng, J., Yang, L., Liu, J., Wen, B., Zhang, N., Huang, Z., Zhu, Q., Feng, Y., Mount, A., Hedgecock, D., Xu, Z., Liu, Y., Domazet-Lošo, T., Du, Y., Sun, X., Zhang, Shoudu, Liu, B., Cheng, P., Jiang, X., Li, J., Fan, D., Wang, W., Fu, W., Wang, T., Wang, B., Zhang, J., Peng, Z., Li, Yingxiang, Li, Na, Wang, Jinpeng, Chen, M., He, Y., Tan, F., Song, X., Zheng, Q., Huang, R., Yang, Hailong, Du, X., Chen, L., Yang, M., Gaffney, P.M., Wang, S., Luo, L., She, Z., Ming, Y., Huang, W., Zhang, Shu, Huang, B., Zhang, Y., Qu, T., Ni, P., Miao, G., Wang, Junyi, Wang, Q., Steinberg, C.E.W., Wang, H., Li, Ning, Qian, L., Zhang, Guojie, Li, Yingrui, Yang, Huanming, Liu, X., Yin, Y., Wang, Jun, 2012. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature* 490, 49–54. <https://doi.org/10.1038/nature11413>



### **Data accessibility**

The data are submitted as electronic supplementary material and deposited into NCBI database platform under the BioProject PRJNA731543 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/731543>).

They are also published on Seanoe (Dugeny et al., 2021, <https://www.seanoe.org/data/00739/85142/>).

### **Authors' contributions**

E.D, B.P. and F.P. designed the study and conducted the experiment, and E.D, J.D.L., E.T. and Y.G. performed bacterial microbiota and transcriptome analyses, E.D., J.D.L., E.T., Y.G. and F.P. analyzed the data. E.D. and F.P. wrote the manuscript together. All authors contributed and approved the paper. E.D. has been involved in all the experiments and analyses that are presented in this article.

### **Competing interests**

We declare we have no competing interests.

### **Funding**

This work was funded by the EU funded projects VIVALDI (H2020 program, n°678589) and FEDIVER (DLAL/FEAMP).

### **Acknowledgments**

We thank the Ifremer staff involved in oyster and algae production at Ifremer Argenton and Bouin. We are grateful to M. Hubert for helping with the experimental set-up, to B. Morga and N. Faury for providing viral suspension, to V. Le Roy and C. Quéré for lipid analyses, to C. Dubreuil for RNA and DNA extraction and J.-F. Allienne for supporting library construction and sequencing. We are grateful to V. Stiger-Pouvreau and E. Deslandes for their expertise with seaweeds.

## VII. Conclusions principales

À retenir

- Nous avons étudié l'influence de trois communautés algales (familles des Ulvaceae, Fucaceae et Solieriaceae) sur le risque de maladie de naissains d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* exposés à l'ostreid herpesvirus OshV-1  $\mu$ Var.
- Parmi les espèces d'algues testées, les algues vertes de la rade de Brest diminuent significativement la survie des jeunes huîtres en contexte de maladie virale.
- La prévalence du virus est augmentée pour les huîtres acclimatées à ces mêmes algues vertes.
- Ces algues vertes induisent une dysbiose chez les jeunes huîtres et perturbent l'équilibre dans la composition des communautés bactériennes associées.
- Les huîtres acclimatées aux algues vertes enclenchent une réponse immunitaire en activant la transcription de gènes impliqués dans les mécanismes de défense envers des pathogènes, potentiellement en réaction à la dysbiose.
- D'autres études sont nécessaires pour caractériser l'éventuelle influence des algues vertes sur le risque de maladie de l'huître creuse, ainsi que des expériences spatio-temporelles pour vérifier ces effets en fonction de l'origine des algues, leur aire de répartition, et s'ils se répètent dans le temps.



# Chapitre 2

---



## Présentation de l'article 2

Le travail présenté dans le **Chapitre 1** montre que les huîtres acclimatées aux algues vertes du genre *Ulva* connaissent une déstabilisation des communautés microbiennes associées, une activation de la transcription de gènes impliqués dans la défense contre des pathogènes et une mortalité aggravée suite à l'infection par l'ostreid herpesvirus OsHV-1. Cependant ces résultats ont été obtenus ponctuellement avec un lot d'huître (NSI) en contact avec une seule cohorte d'algues vertes prélevées au même site d'étude en Rade de Brest. Etant donné qu'il existe une variation géographique et temporelle des communautés microbiotiques associées aux macroalgues (Marzinelli et al., 2015), leurs effets sur les huîtres n'est potentiellement pas le même d'une année sur l'autre et d'un site à un autre. Par ailleurs, différents lots d'huîtres aux sensibilités contrastées, pourraient avoir des réponses différentes à l'acclimatation aux algues au niveau de la structure des communautés bactériennes et de leur survie en contexte d'infection. L'objectif de cette seconde expérience était donc de répliquer la première manipulation, avec le même lot d'huîtres et le même assemblage d'algues vertes; mais aussi de tester les effets de l'acclimatation à différents assemblages d'ulves provenant de sites distincts en Manche et en Atlantique sur deux lots d'huîtres.

De nouveau, l'expérience s'est déroulée en milieu contrôlé à paramètres constants. Les deux lots d'huîtres (famille au phénotype sensible  $S_{F15}$  et NSI, mélange de phénotypes contrastés en termes de sensibilité) ont été acclimatées pendant 14 jours aux différents assemblages d'algues collectées dans la baie de Morlaix, la rade de Brest, la baie de Concarneau et le Golfe du Morbihan. Après cette phase d'acclimatation, une phase d'infection a été lancée grâce à l'ajout d'une source infectieuse consistant, comme dans la première expérience, en un bassin contenant des huîtres SPF infectées par une

suspension virale d'OsHV-1 et distribuant une eau chargée en virus dans le dispositif expérimental.

Des prélèvements ont été réalisés dans les algues et les animaux à des temps clefs pour analyser et comparer cette manipulation à la première étude sur le plan microbiotique, physiologique, de la réplication virale, ainsi que sur la survie des huîtres receveuses. Les résultats obtenus sont présentés dans ce **Chapitre 2**.

# Geographic and temporal effects of green algae on oysters exposed to viral infection

*In preparation for submission*

Elyne Dugény<sup>1</sup>, Julien de Lorgeril<sup>2,3</sup>, Bruno Petton<sup>1</sup>, Eve Toulza<sup>2</sup>, Yannick Gueguen<sup>2</sup>, Fabrice Pernet<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Univ Brest, Ifremer, CNRS, IRD, LEMAR, F-29280 Plouzané, France.

<sup>2</sup> IHPE, Université de Montpellier, CNRS, Ifremer, Université de Perpignan Via Domitia, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier, France.

<sup>3</sup> Ifremer, IRD, Univ Nouvelle-Calédonie, Univ La Réunion, ENTROPIE, F-98800 Nouméa, Nouvelle-Calédonie, France.

\* Author for correspondence: [fabrice.pernet@ifremer.fr](mailto:fabrice.pernet@ifremer.fr)

## Abstract

Recent interest in microorganisms has extended to the microbiota of hosts and how they interact, as a large number of diseases result from a microbiome imbalance. In a previous study, we showed that oysters exposed to green algae were more susceptible to the infection by the Ostreid herpesvirus type 1, coinciding with dysbiosis and modification of host immune response. However, this study was conducted once with green algae collected from only one site. Since the quality of algae and their microbiota can vary in time and space, their effect on oysters during a viral infection may change. Here we tested if green algae induce dysbiosis in oysters regardless of their geographical origin. We also test if the effect of green algae on viral infection is modulated by the disease resistance of the host. Two lines of oysters were acclimated to four batches of green algae from different sites in Brittany. Then the oysters were exposed to a viral infection and we followed host (mortality) and pathogen (virus excretion in seawater) dynamics in relation to the microbiota of the host. Overall, the results confirm our previous study: the two lines of oysters acclimated to green algae were more susceptible to OsHV-1 than controls and this coincided with early dysbiosis of the bacterial microbiota. However, oysters exposed to green algae from the English Channel showed mortalities and microbiota similar to that of controls without green algae, supporting the idea that dysbiosis contributed to excess mortality.

## Keywords

Bivalve, disease ecology, epidemiology, green algae, microbiome, pathogen

## I. Introduction

Disease risk depends on host-pathogen-environment interactions where changes in any of these compartments can lead to disease emergence (Burge et al., 2014). Combination of environmental factors, resistance of the host, as well as disruption of the microbiome may play a role in the establishment and severity of diseases (Legatzki et al., 2014; Buttó et al., 2015; Donaldson et al., 2015; Hajishengallis and Lamont, 2016; Egan and Gardiner, 2016). Numerous diseases may result from a destabilized microbiome, also referred to as dysbiosis, increasing the likelihood of opportunistic or polymicrobial infections, which questions the idea of a single responsible pathogen (Egan and Gardiner, 2016; Sweet and Bulling, 2017; Bass et al., 2019). Indeed, disease can result from the proliferation of opportunistic pathogens in an organism due to dysbiosis in its microbiome, linked to environmental pressures or stress (Lesser et al., 2007; Burge et al., 2013; Egan et al., 2014; Egan and Gardiner, 2016). This illustrates the emerging concept of pathobiome, integrating the interaction of multiple agents such as the host, its microbiome and the environment into a new understanding of pathosystems (Vayssier-Taussat et al., 2014; Sweet and Bulling, 2017; Bass et al., 2019).

Worldwide, the history of oyster farming has been plagued by epizootics (MacKenzie, 1996; Gouletquer and Heral, 1997; Nell, 2001; Buestel et al., 2009; Troost, 2010). Ostreid herpesvirus type I (OsHV-1) has been characterized as the agent responsible for the high mortality episodes in *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) oysters since 2008 (Segarra et al., 2010; Martenot et al., 2011; Renault et al., 2012). It is the first critical step of the Pacific Oyster Mortality Syndrome (POMS) inducing a polymicrobial disease and secondary colonization by opportunistic bacterial pathogens (de Lorgeril et al., 2018). Associated microorganisms may play an important role in the establishment of this polymicrobial disease (Clerissi et al., 2020). It has been shown that oyster microbiomes are highly variable and can shift due to multiple



stressors (Green and Barnes, 2010; Wegner et al., 2013; Lokmer and Wegner, 2015; Lokmer, et al. 2016a; Lokmer, et al. 2016b; King et al., 2018), seasonal variations (Pierce et al., 2016) and translocation (Lokmer et al., 2016a). This raises interrogations concerning the potential role of this microbiome variability in disease resistance or susceptibility (King et al., 2019b), even more so since different microbiota have been identified as potential predictors of oysters disease resistance (Clerissi et al., 2020; King et al., 2019c). Indeed, different microbial community structure of *C.gigas* have been linked with disease-resistance resulting in contrasted phenotypes (King et al., 2019b). Yet, potential deterministic effects inducing changes in microbiome may be masked by processes related to the ‘Anna Karenina principle’, which implies that, contrary to healthy individuals, organisms affected by dysbiosis host a more variable microbial community composition, only affected by stochastic alteration (Zaneveld et al., 2017).

In this context anything impacting the oyster’s microbial community may have an impact on its disease resistance. In a previous study we investigated how different algae affect oyster microbiomes and their survival in a disease context. Algae require calm and sheltered environments like estuarine areas or mudflats with large amount of organic matter and nutrients to bloom (Morand and Merceron, 2005; Charlier et al., 2006; Ye et al., 2011; Smetacek and Zingone, 2013). Consequently, they are widely distributed in oyster farming environments and host a highly diversified epiphytic community (Egan et al., 2013). We showed that green algae alter oyster bacterial microbiota and stimulate the expression of genes involved in immune response associated with reduced survival when exposed to OsHV-1 (Dugeny et al., 2022). However, this study was conducted once with green algae collected from only one site. It has been demonstrated that latitude and environmental variables may influence the microbial communities associated to algal hosts (Marzinelli et al., 2015). Since

the state of algae and their microbiota may vary, their effect on oysters during a viral infection may change requiring an extended study to generalize previous observations.

Thus, in this study, we tested the hypothesis according to which green algae induce dysbiosis in oysters regardless of their geographical origin and if this effect is stable in time for the same geographical location. On the other hand, we tested the hypothesis that the effect of green algae on viral infection is modulated by the disease susceptibility of the host. For this, two lines of oysters were acclimated to four batches of green algae from different sites in Brittany, three sites along the Atlantic Coast (AC) and one site in the English Channel (EC). This includes one site from which algae were already used in Dugeny et al. (2022) allowing to compare the data between the two experiments.

The first line of oysters was the same used for the previous experiment and consisted of an offspring from a large parental population collected in the natural environment, which are genetically diversified and which presents contrasted phenotypes in term of susceptibility to POMS. The other oyster line used in this experiment was the second generation of a bi-parental family selected for its high susceptibility to POMS. Using two lines, one with variable genotypes and another with a common shared genotype, allows to decipher if the acclimation with green algae has different effects on both oysters' microbial states and if bacterial communities diverge even before the disease induced by OshV-1 infection. According to the previous holistic studies that used resistant and susceptible families (de Lorgeril et al., 2018; Clerissi et al., 2020), we expected that the selected susceptible family experienced stronger microbiota destabilization compared to some more resistant individuals in the phenotype contrasted line. Our oysters were exposed to the green algae in controlled conditions before being challenged with a viral infection. Oyster survival and pathogen transmission in the water

were monitored and oyster bacterial microbiota have been analyzed to investigate if all selected green algae influenced oyster susceptibility to POMS.

## II. Material and methods

### II.1. Living organisms

#### II.1.1) Oysters

We selected two lines of oysters. The first line (“Naissain Standardisé Ifremer” NSI), as used in the previous study in 2018, originates from a large pool of broodstock found in the natural environment, with diversified phenotypes in terms of disease-resistance and susceptibility (Petton et al., 2013). A second line consisting in a biparental family that is highly susceptible to the disease ( $S_{F15}$ ) and already used in other precedent works (de Lorgeril et al., 2018; Clerissi et al., 2020), was also selected for the experiment. These two groups of oysters were considered as Specific Pathogen Free (SPF, Petton et al., 2015; Le Roux et al. 2016). Pacific oysters *Crassostrea gigas* were produced under controlled conditions according to (Petton et al., 2015). Adult oysters were matured in the laboratory by raising the filtered and UV-treated seawater temperature to 17°C and by feeding *ad libitum* for 6 weeks at the Ifremer marine station located at Argenton (France). The oysters were screened using an OsHV-1-specific quantitative PCR assay at the different stages of production and no OsHV-1 DNA was detected. Concerning the  $S_{F15}$  family, gametes from 15 related females and 10 males, obtained by biparental reproduction in march 2015 (de Lorgeril et al., 2018), were collected on 18 February 2020.

For NSI, broodstock conditioning started on the 2<sup>nd</sup> of January and gametes from 82 females and 17 males were collected by stripping and were fertilized on 18 February 2020. Juveniles between 2 and 4 mm were transferred to the Bouin station for nursery on 29 April 2020 (the

70<sup>th</sup> raising day) and back to the Ifremer facilities at Argenton on 9 May 2020. They were 3 months-old and *ca.* 0,52g in weight, for the start of the experiment on 25 May 2020.

Before the experiments, oysters were maintained at 21°C in 500 L flow-through tanks, supplied with seawater filtered on 5µm and sterilized with UV radiation. Animals were consistently fed with a mixture of *Chaetoceros muelleri* (CCAP 1010/3) and *Tisochrysis lutea* (CCAP 927/14) (1:1 in dry weight). Food concentration was maintained at *ca.* 1500 µm<sup>3</sup> µL<sup>-1</sup> of microalgae in seawater at the outlet of the tanks and verified daily using an electronic particle counter (Coulter Multisizer 3) equipped with a 100 µm aperture tube. Physical parameters were fixed to 21°C for temperature and between 34 and 35 g L<sup>-1</sup> for salinity. Temperature, salinity, pH (*ca.* 8.00) and oxygen (100% saturated) were controlled daily with the WTW probes xi3101, cond340, pH3310 and FDO 925, respectively (Fisher scientific, Illkirch-Graffenstaden, France).

### II.1.2) Green algae

For the collection of green algae all around Brittany, we selected mudflat sites close to oyster farms, where green tides have been reported for successive years, as assessed by the 2018 inventory of the “Centre d’Etude et de Valorisation des Algues” (CEVA, 2018). Green algae thriving in the middle shore were collected at low tide with their substrata (small stones and shell pieces) and no free thalli were kept. All collections were performed on 19 May 2020.

For comparison with our previous study, *Ulva spp.* were collected at the same place in the bay of Brest (Anse du Roz, 48°19'22.2"N 4°19'09.0"W) while seawater temperature was 13.1°C. Two other batches of algae were collected along the Atlantic Coast (AC) with one in the bay of Concarneau (Port-la-Forêt, 47°53'55.2"N 3°58'49.4"W) in a water reaching 13.0°C and another one in the Gulf of Morbihan (Cadouarn, Séné, 47°36'50.8"N 2°45'49.2"W), in

seawater temperature of 13.0°C. A last batch was collected from the English Channel (EC) in the bay of Morlaix (Carantec, 48°39'41.3"N 3°55'43.1"W) where seawater temperature was 12.0°C.

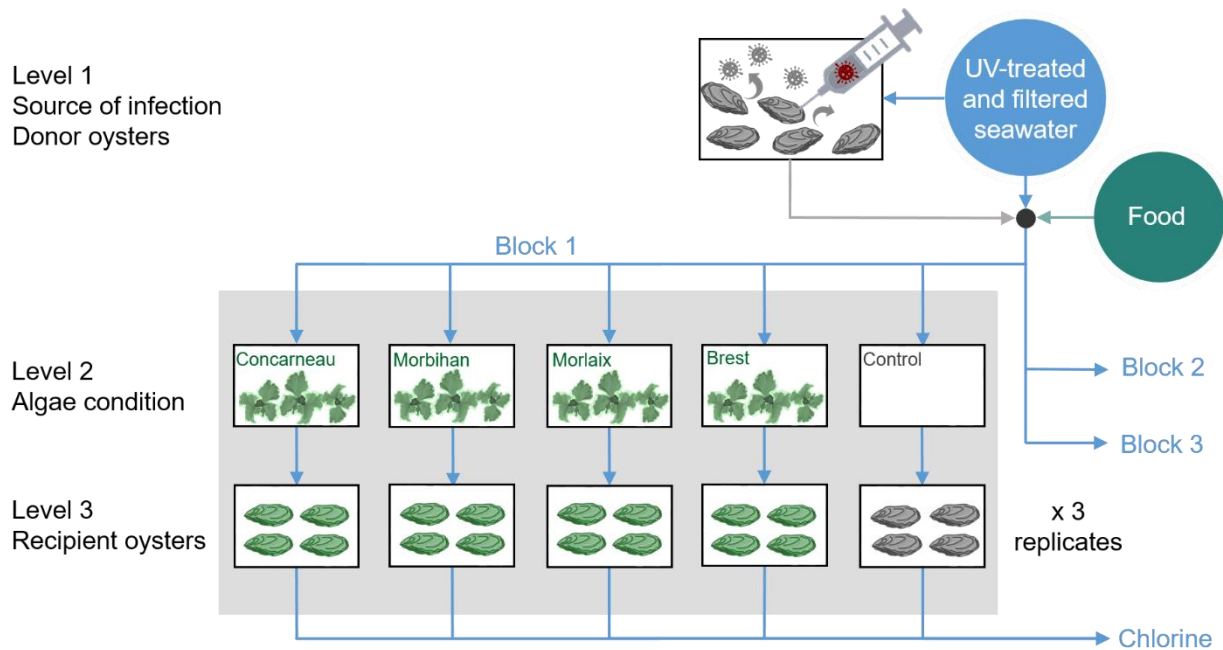
Once in the laboratory, each batch of green algae from AC and EC and their associated microorganisms were kept separated in three 500 L flow-through tanks after rinsing with sea water, until the onset of the experiment. The green algae remained alive during the entire duration of the experiment.

## II.2. Experimental design

The experiment consisted of two successive phases: acclimation of oysters to green algae followed by virus exposure.

We used a 3-level open-flow system developed in a previous study (Pernet et al., 2021) where virus-contaminated seawater supplied with phytoplankton (level 1) was distributed amongst 18 experimental units consisting of one tank containing the green algae (or left empty as control, level 2) connected to one recipient tank containing the two lines of oyster (level 3, Figure 1). Each condition was run in triplicates spread over three blocks (5 experimental units per block). Each experimental unit was connected to the seawater supply, to the food supply and to the source of infection by flexible tubes fitted inside a peristaltic pump. Filtered seawater (5µm) exposed to UV sterilization was delivered through the whole device. The seawater flow was set to 300 mL min<sup>-1</sup> at the entry of each experimental unit. Seawater renewal rate was 80% h<sup>-1</sup> for the 45 L tanks and was homogenized by means of a recirculation pump and air bubbling to maintain O<sub>2</sub> levels. Oysters were fed *ad libitum*. Seawater was sampled daily at the inlet and outlet of each experimental tank to determine phytoplankton consumption as previously described (Pernet et al., 2021; Dugeny et al., 2022). The

phytoplankton concentration was adjusted at the inlet of the tank containing green algae or control (level 2) to obtain  $\sim 800 \mu\text{m}^3 \mu\text{l}^{-1}$  leftover at the outlet of the recipient tank (level 3).



**Figure 1.** Experimental design. Arrows indicate direction of water flow. Each experimental unit consists in a test tank containing algae or control, flowing to a tank containing oysters. The tank containing donor oysters was placed only after two weeks of acclimation, for the infection phase.

### II.2.1) Acclimation phase

Green algae were placed in tanks of level 2 on May 19th 2020. Three tanks remained without green algae as control (Figure 1).

Oysters from two lines, NSI and  $S_{F15}$ , were placed in tanks in level 3 on May 25<sup>th</sup> 2020 (Figure 1). The biomass of NSI oysters was  $ca. 80 \text{ g} \pm 0.1$  in each tank, corresponding to around 155 individuals. Oysters from  $S_{F15}$  family were added to each recipient tank with  $ca. 60 \text{ g} \pm 0.1$  for around 122 juveniles. In total, each recipient tank contained  $ca. 140 \text{ g} \pm 0.1$  of about 280 oysters, and each line of oysters were kept separated on each side of the tank.

Acclimation lasted for 14 d until 9 June 2020.

### II.2.2) Virus exposure

We performed an experimental infection by injecting a viral suspension in SPF NSI oyster donors and using their contaminated seawater containing viral particles released as infectious source for the recipient oysters. These SPF oysters were myorelaxed in  $\text{MgCl}_2$  ( $50 \text{ g L}^{-1}$  in a mixture of seawater and distilled water 40/60 v/v) at  $21^\circ\text{C}$  (Suquet et al., 2009) for injection on June 8<sup>th</sup> 2020. A total of *ca.* 700 oysters (2.14 kg) were individually injected in the adductor muscle with  $50 \mu\text{L}$  of viral suspension, containing  $3.75 \times 10^5$  copies of OsHV-1  $\mu\text{Var} \mu\text{L}^{-1}$  diluted by 10x (D. Schikorski et al., 2011). They were kept without feeding in a 200 L tank in static, oxygenized seawater for 24 h, releasing viral particles and loading the seawater ( $21^\circ\text{C}$ ) with pathogens (level 1, Figure 1).

Twenty-four hours after injection, this contaminated seawater was used as the infection source and connected to the seawater distribution network by flexible tubes fitted inside a peristaltic pump (Pernet et al., 2021). The water input from the source of infection was interrupted after 7 days of exposure. The donors were then removed after one week. Survival of oysters placed in the virus-contaminated seawater (donors in level 1) and in the recipient tanks (level 3) was monitored daily for 16 d, and dead animals were removed at the end.

### II.3. Sampling

Oysters (N = 10 individuals, 5 NSI and 5  $S_{F15}$ ) were sampled during acclimation at day 14 in each recipient tank and after virus exposure, 72 h post-infection (hpi, 17 d) for the condition with green algae from the bay of Brest as previously reported (Dugeny et al., 2022). Soft tissues of the entire animal body were removed from the shells, pooled together, flash frozen in liquid nitrogen and stored at  $-80^\circ\text{C}$ . Samples were then ground in liquid nitrogen with a

MM400 homogenizer. The resulting powder was subsampled for bacterial microbiota (metabarcoding) for NSI and S<sub>F15</sub> and for lipid analyses for NSI only.

Green algae (ca. 2 g) were also sampled during acclimation at day 14 for metabarcoding analyses. As for oysters, these green algae samples were flash frozen in liquid nitrogen, stored at -80°C and ground in liquid nitrogen.

Seawater (ca. 1 mL) was sampled at 72 hpi at the inlet and outlet of the tanks containing the oysters for OsHV-1 DNA detection. Seawater was stored in sterile 1.5 mL Eppendorf tubes at -20°C until analysis.

## II.4. Analyses

### II.4.1) Quantification of OsHV-1

The detection and quantification of OsHV-1 DNA was carried out on seawater samples at 72 hpi, by Laboceia, a French public diagnostic laboratory (Quimper, France). Total DNA was extracted from seawater samples with a QIAamp tissue mini kit (Qiagen) according to the manufacturer's protocol. The extracts were stored at -20°C before detection and quantification using a real-time PCR protocol (Taqman, Martenot et al., 2011). The method used in our study was the recommended method for reasons of availability, utility and diagnostic specificity and susceptibility for OsHV-1 detection (<http://www.oie.int/en/standard-setting/aquatic-code/access-online/>). Virus detection and quantification analyses were conducted by Laboceia in compliance with approved quality management system ISO 17025 and COFRAC. In 2009, the OsHV-1  $\mu$ Var had fully replaced the reference OsHV-1 genotype in oysters presenting mortality at all French oyster production sites (Segarra et al., 2010; Renault et al., 2012; Martenot et al., 2011).



#### II.4.2) *Bacterial microbiota analysis*

Analyses were conducted as described in previous works (de Lorgeril et al., 2018; Dugeny et al., 2022). DNA was extracted from frozen oyster and algae powders (sampled at 5 and 14 days) and from oysters in the condition with green algae from Brest (NSI and S<sub>F15</sub> at 17 d) using the 'DNA from tissue' Macherey-Nagel kit (reference 740952.250). DNA concentration and purity were checked with the Nanodrop ND-1000 spectrometer. For each sample, 16S rDNA genes amplicon libraries were generated using the 341F-CCTACGGGNGGCWGCAG and 805R-GACTACHVGGGTATCTAATCC primers targeting the variable V3V4 loops for bacterial communities (Klindworth et al., 2013). Libraries were generated using the Illumina two-step PCR protocol and normalized SequelPrep plates. Paired-end sequencing with a 250-bp read length was performed at the Bio-Environnement UPVD technology platform (University of Perpignan Via Domitia Perpignan, France) on a MiSeq system (Illumina) using v2 chemistry according to the manufacturer's protocol. We added libraries generated for the experiment in 2018 (Dugeny et al., 2022) and obtained with the same process for the temporal microbiota comparison. The FROGS pipeline (Find Rapidly OTU with Galaxy Solution) implemented into a Galaxy instance was used to define Operational Taxonomic Units (OTU) and to compute taxonomic affiliations (Escudié et al., 2018). Paired reads were merged using FLASH (Magoč and Salzberg, 2011). After denoising and primer/adaptor removal with Cutadapt (Martin, 2011b), clustering was performed with SWARM, which uses a clustering algorithm with a threshold (distance=3) corresponding to the maximum number of differences between two OTUs (Mahé et al., 2014). Chimeras were removed using VSEARCH (Rognes et al., 2016). We excluded chloroplasts from the dataset, filtered out singletons and produced affiliations using Blast against the Silva 16S rDNA genes database (release 132, Dec 2017) to produce an OTU and affiliation table in the standard BIOM format. Rarefaction curves of the species richness,

confirming a sufficient sequencing, were generated using the Phyloseq R package and the `rarefy_even_depth` and `ggrrare` functions (McMurdie and Holmes, 2013). We used Phyloseq to obtain community composition and to infer diversity metrics at the OTU level using R v3.3.1 (R: a language and environment for statistical computing, 2008; R Development Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria [<http://www.R-project.org>]).

#### *II.4.3) Gross physiology of oysters*

We performed complementary measurements of host food ingestion, energy reserves and trophic indicators to investigate potential confounders. Oysters might be exposed to dissolved and particulate compounds that potentially alter their health or their microbiota and subsequently their response to pathogens.

We measured the volume of microalgae consumed per minute once a day over the duration of the experiment in each tank containing the recipient oysters. Daily ingestion rates were averaged over the 14 days of acclimation periods for each condition and tank.

In addition, we evaluated the triacylglycerol to sterol ratio (TAG/ST) of NSI oysters at the end of the acclimation period (14 d), since this measure is a proxy of physiological condition in marine organisms associated with disease resistance or tolerance in oysters (Pernet et al., 2019). Frozen oyster powder sampled at 14 d was placed in glass vials containing chloroformmethanol (2:1 v/v) and stored at -20°C in gaseous nitrogen until analyses. Powder aliquots of oysters (150 mg) were placed in amber glass vials filled with 3 mL chloroformmethanol (2:1 v/v) and stored at -20 °C until use. Just before the analysis, the samples were sonicated for 5 min and centrifuged for 2 min at 1000 rpm. Neutral lipid classes were analyzed by HPTLC (high performance thin layer chromatography) using a CAMAG system (Chromacim SAS, Moirans, France), consisting of a sampler (TLC Sampler 4) and a

reader (TLC Scanner 3). Silica plates (HPTLC plates silica gel 60, 10\*20 cm, Merck) previously conditioned with a 1:1 hexane-diethyl ether mixture, were activated for 30 minutes at 120 °C. Samples were spotted on silica plates using a CAMAG automatic sampler, and the plates were eluted in solvents of increasing polarities. Lipid classes were separated using hexane-diethyl ether-acetic acid (20:5:0.5, v/v/v) followed by hexane-diethyl ether (97:3, v/v). The lipid classes appeared as black marks after the silica plates had been soaked in a solution of copper sulphate (3 %) - orthophosphoric acid (8 %) and heated to 120 °C for 20 minutes. To quantify the lipid classes, a mixture of standards was deposited on each plate. This mixture of standards was prepared in similar proportions to those found in the neutral lipids of oysters: 58 % menhaden oil for the triglycerides, 14 % cholesterol for the sterols, 3 % 1-octadecanol for the alcohols, 10 % cholesterol palmitate for the sterol esters, 13 % 1-O hexadecyl-2,3 dipalmitoyl-rac-glycerol for the glyceride ethers and 2 % stearic acid for the free fatty acids. Results were obtained by making readings at 370 nm and quantifying the marks with the Wincats program. Identified compounds were sterols (ST;  $\mu\text{g mg}^{-1}$  tissues) and triacylglycerol (TAG;  $\mu\text{g mg}^{-1}$  tissues). Since TAG are mainly reserve lipids and ST are structural constituents of cell membranes, we used the TAG/ST ratio as a proxy for the relative contribution of reserve to structure, as reported in larvae of marine invertebrates (Fraser, 1989).

## II.5. Statistics

Statistical analyses were performed using 'R' (version 4.0.3; R Core Team, 2020). Survival curves of oysters were compared across conditions using the Cox regression model (Cox, 1972) which takes into account the kinetics of the infection rather than the final point. A general linear mixed model (GLMM, split-split-plot) was used to determine the effect of condition, level and sampling time (repeated measurement) on the virus concentration in the seawater at the outlet of the tanks containing the green algae and containing the oysters. Here the tank

was used as a random factor. Analysis of variance were used to evaluate if TAG/ST ratio and ingestion rate were different due to the conditions. Tukey's HSD was used as a post hoc test to determine which conditions differed when ANOVA was significant. The normality of residuals and homogeneity of variance was graphically checked, and data were log<sub>10</sub> transformed to meet the normality assumption where necessary.

Multidimensional Scaling (MDS, {phyloseq}; McMurdie and Holmes, 2013) was computed to represent dissimilarities between samples using the Bray-Curtis distance matrix (ordinate, {phyloseq}). The 200 most abundant OTUs were selected and used for DESeq2 analyses (DESeq {DESeq2}) to identify those whose relative abundance varied significantly between conditions after 14 days of acclimation (Love et al., 2014). First, we identified OTUs at the genera level whose relative abundance changed after the acclimation period and during the infection phase for oysters exposed to green algae from Brest in the first experiment in 2018 and in the second in 2020, by comparing the oysters acclimated for 14 days to green algae with the respective control from the same year. We also identified genera with significant differential representation between oysters acclimated with green algae from different locations in 2020 by comparing them with the control after 14 days of experiment. Heatmaps of bacterial genera with significant changes in abundances after acclimation were computed using the log<sub>2</sub> of the fold change distance and Multiple Array Viewer software (Supek et al., 2011). NSI and S<sub>F15</sub> oysters were grouped for subsequent community analysis. We tested multivariate homogeneity of group dispersions ('permutest', 'betadisper'; {vegan}; R package version 2.5-7; Oksanen et al., 2018) and tested bacterial assemblage similarity between samples using 9999 permutations ({pairwiseAdonis}; R package version 0.0.1; Arbizu, 2017). Alpha diversity indices were compared between conditions in the two lines of oysters and in algae, using the multiple comparison using Kruskal-Wallis rank sum test followed by a post-hoc test after Dunn

(`dunn.test {dunn.test}`; Dinno, 2017) with a Benjamini-Hochberg correction (Benjamini and Hochberg, 1995).

### III. Results

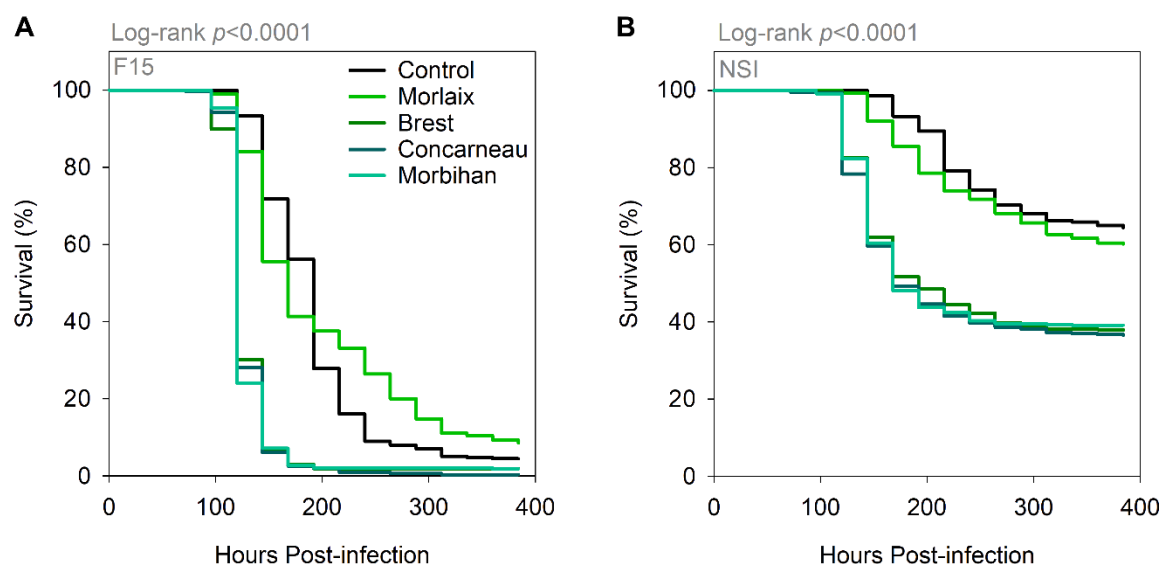
#### III.1. Oyster survival

Survival of recipient oysters was measured and compared between conditions for the two distinct lines of recipient oysters.

For the  $S_{F15}$  oyster line, a high mortality rate was reached because of the susceptible nature of its phenotype. A higher impact of green algae from AC on  $S_{F15}$  has been revealed. Mortalities of oysters acclimated to green algae from EC started later than others and stayed globally close to the control condition. Survival of controls was *ca.*  $4.4 \pm 1.79\%$  compared to  $8.5 \pm 5.3\%$  with green algae from EC. With green algae from AC, it was  $1.9 \pm 2.3\%$  for Brest,  $1.8 \pm 1.6\%$  for Morbihan and  $0.3 \pm 1.8\%$  for Concarneau (Figure 2A). Significant differences in survival were found between control and oysters exposed to green algae from AC (Table 1).

The same dynamic, with generally lower mortality can be observed for the NSI line. Here again, the control and oysters acclimated to green algae from EC have a significantly higher survival than oysters acclimated to green algae from AC. Both lines thus seem to be impacted similarly by the acclimation to green algae. The NSI line, with contrasted phenotypes, allowed us to observe clearer differences in the dynamics of the infection process (Figure 2B). Survival of controls was  $64.4 \pm 3.4\%$  compared to  $60.3 \pm 14.3\%$  with green algae from Morlaix,  $39.1 \pm 4.4\%$  with green algae from Morbihan,  $37.8 \pm 7.6\%$  with green algae from Brest and  $36.5 \pm 3.4\%$  with green algae from Concarneau. Odds of oyster mortality were between 1.7 and 1.9 for oysters acclimated to green algae from AC compared to control (Table 1). Mortality of recipient oysters with green algae from AC was significantly higher than the control as

opposed to the one with green algae coming from EC (Table 1). It should be noted that the replicates of this condition have different patterns and that a tank effect may have occurred in this averaged dynamic (Figure S1).



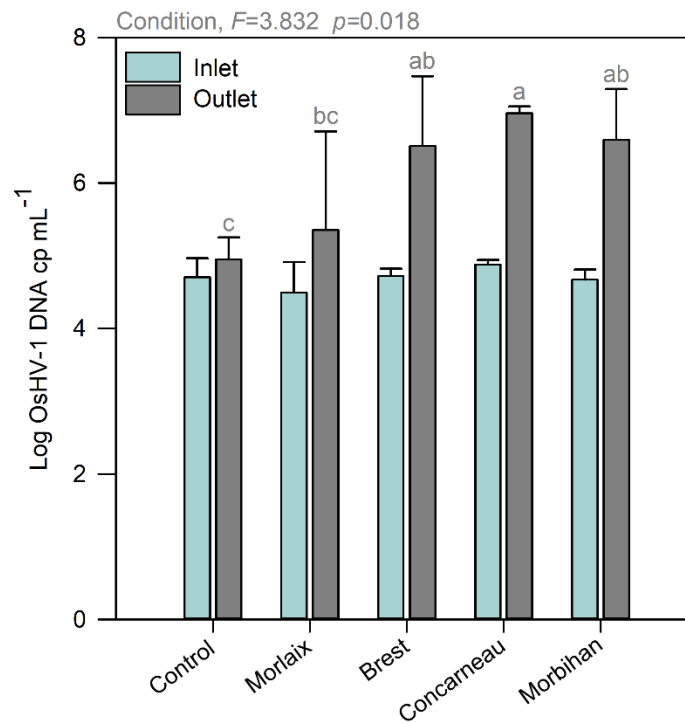
**Figure 2.** Survival of oysters exposed to OsHV-1 after acclimation with algae from different origin for  $S_{F15}$  (A) and NSI (B). Data are means  $\pm$  SD,  $n=3$  replicate tanks.

**Table 1.** Cox regression model for survival data of the two oyster lines acclimated to green algae during 14 days and exposed to OsHV-1. Control oysters with no green algae were used as reference.

Line	Condition	Df	Estimate	SE	$\chi^2$	$P$	Odds ratio
$S_{F15}$	Brest	1	1.348	0.089	15.094	<b>&lt;2e-16</b>	3.850
	Concarneau	1	1.416	0.086	16.435	<b>&lt;2e-16</b>	4.119
	Morbihan	1	1.387	0.086	16.184	<b>&lt;2e-16</b>	4.002
	Morlaix	1	-0.026	0.086	-0.307	0.759	0.974
NSI	Brest	1	0.631	0.098	6.461	<b>1.04e-10</b>	1.880
	Concarneau	1	0.597	0.099	6.042	<b>1.52e-09</b>	1.817
	Morbihan	1	0.553	0.100	5.535	<b>3.11e-08</b>	1.739
	Morlaix	1	0.043	0.111	0.388	0.698	1.044

## III.2. Virus concentration

The concentrations of virus in seawater (estimated by the number of OsHV-1 DNA copies mL<sup>-1</sup> detected by qPCR) at the inlet of the oyster tanks 72 hpi were of the same order of magnitude among conditions (between  $1.05 \times 10^4$  and  $9.47 \times 10^4$  copies mL<sup>-1</sup>, Figure 3). However, at the outlet of the tanks, virus concentration was significantly higher for the conditions with green algae from AC compared to the control. These results show that oysters were exposed to the same viral load but in recipient tanks, replication was significantly higher in conditions with green algae from the three sites of AC.



**Figure 3.** OsHV-1 DNA detection in seawater 72 hpi at the inlet and outlet of tanks containing the oysters. Data are means  $\pm$  SD,  $n=3$  replicate tanks. General linear mixed model (GLMM, split-split-plot) was used to determine the effect of condition, level and sampling time (repeated measurement) on the virus concentration in the seawater at the outlet of the tanks containing the green algae and containing the oysters with tank as random factor. The normality of residuals and homogeneity of variance was graphically checked, and data were log<sub>10</sub> transformed to meet the normality assumption where necessary.

### III.3. Oysters and green algae bacterial microbiota

We analyzed bacterial communities using 16S metabarcoding after the acclimation phase at day 14 for green algae and the two lines of recipient oysters. Additionally, we analyzed oysters in contact with green algae from the bay of Brest during the virus exposure at day 17. A total of 13,061,482 reads were obtained from 84 libraries. After the cleaning and filtering steps, 10,912,462 sequences were affiliated to 27,797 OTUs. After removing chloroplasts and non-bacteria, a total of 23,997 OTUs were kept for further analyses (Supplementary data, Figure S2). Triplicates did not allow us to perform sufficiently robust statistics to compare conditions. Consequently, since PERMANOVA gave no significant differences between lines (Table 2) and since NSI and S<sub>F15</sub> are highly similar in bacterial compositions (Figure 4A) and share similar proportion for bacteria Classes (Figure S3) for all conditions, we made the choice to compare oysters kept in each condition without separating the two lines (Table S1).

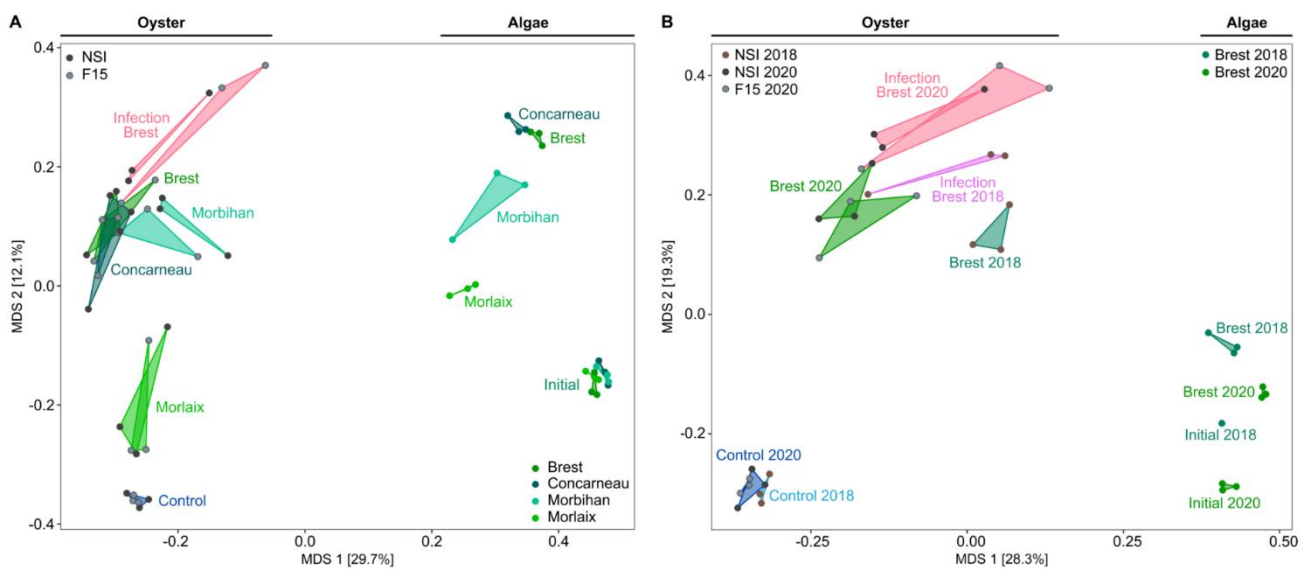
The bacterial microbiota of oysters acclimated to green algae diverged from that of controls at day 14 (Figure 4A, PERMANOVA Table 2 and Table S1). The microbiota of oysters at day 14 were significantly different among all conditions ( $R^2$  ranges from 0.240 to 0.651,  $p < 0.01$ , Table S1). Bacterial microbiota of infected oysters (17 d) acclimated to green algae from Brest were significantly different from every other condition, despite being closer to the other conditions with algae from AC ( $R^2$  ranges from 0.294 to 0.650 with  $p < 0.01$ , Table S1).

It was not possible to statistically compare green algae microbiota communities, because these data were only consisting in triplicates. The visualization of the community composition presented on the MDS plot and bacteria class proportion in relative abundances suggest that these communities may differ in time depending on the origin of the algae, which the oysters were acclimated to (Figure 4A and Figure S3). Although initially, all our green algae batches hosted a comparable bacterial microbiota, they shifted depending on their origin after two



weeks of acclimation. Particularly, green algae from EC are more distinct from AC batches after the acclimation in the MDS of bacterial composition.

When comparing bacterial microbiota composition of the present experiment to the results of 2018 (Dugeny et al., 2022), differences between both experiments can be identified (PERMANOVA Table 2,  $p < 0.05$ ,  $R^2 = 0.12$ ). While control oysters of both years superpose on the MDS, a clear separation can be observed for the oysters acclimated to green algae from Brest (Figure 4B).



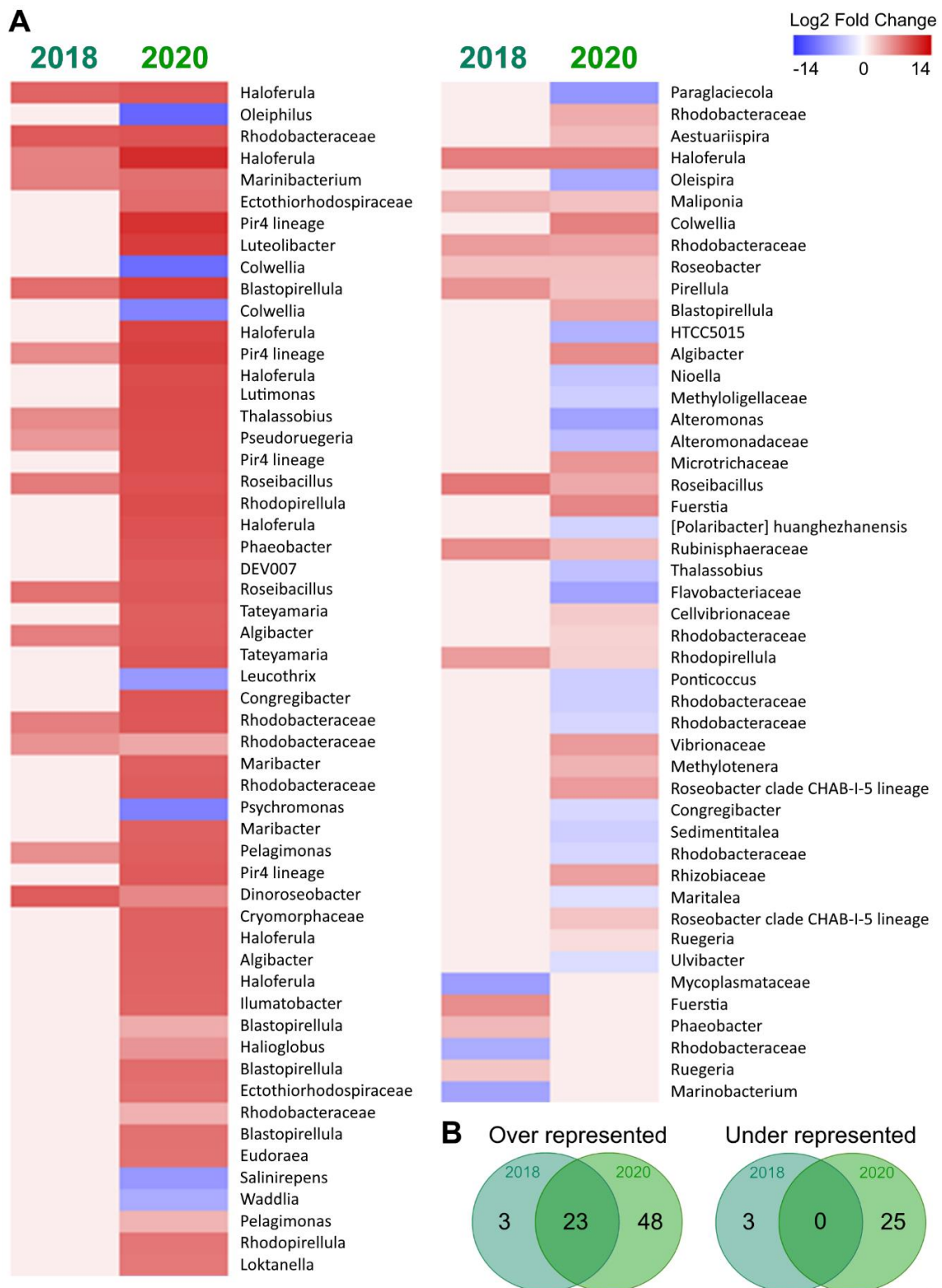
**Figure 4.** Bacterial microbiota in oysters (NSI +  $S_{F15}$ ) during acclimation to algae and virus exposure. Multidimensional Scaling (MDS) based on Bray-Curtis dissimilarity matrix of bacterial communities composition structure in algae (initial and 14 d) and in oysters at 14 days for all conditions and 17 days for the condition with algae from Brest (A); and in oysters (14 d and 17 d) and algae (initial and 14 d) for the condition with algae from Brest in 2018 and 2020 (B). Each point of the triangles corresponds to one of the 3 replicates at one time. Dots represent distinct pools of 5 oysters, NSI (2018 brown and 2020 black) and  $S_{F15}$  (2020 grey). Colors correspond to algal batches origin or the condition for oysters.

**Table 2.** Two-way PERMANOVAs testing the effect of conditions (acclimation), line ( $S_{F15}$  or NSI) on bacterial microbiota of oysters at 14 days and infected oysters with green algae from Brest at 17 days (2020). Two-way PERMANOVAs testing the effect of conditions and year (2018 vs 2020) on bacterial microbiota of control and oysters acclimated to green algae from Brest.

Analysis	Group	Factors	Df	Sum of Square	Mean Square	F	R <sup>2</sup>	P
<b>2020</b>	<b>Oysters</b>	Condition	5	4.546	0.909	9.876	0.637	<b>0.001</b>
		Line	1	0.076	0.076	0.821	0.011	0.541
		Condition*Line	5	0.304	0.061	0.660	0.043	0.940
		Residuals	24	2.210	0.086		0.363	
		Total	35	7.135			1.000	
	<b>Algae</b>	Origin	3	1.710	0.570	6.239	0.262	<b>0.001</b>
		Time	1	1.991	1.991	21.788	0.305	<b>0.001</b>
		Origin*Time	3	1.364	0.455	4.974	0.209	<b>0.001</b>
		Residuals	16	1.462	0.091		0.224	
		Total	23	6.527			1.000	
<b>2018 vs 2020</b>	<b>Oysters</b>	Year	1	0.606	0.606	2.468	0.120	<b>0.025</b>
		Condition	1	0.501	0.501	2.040	0.099	<b>0.050</b>
		Year*Condition	1	0.493	0.493	2.010	0.098	0.080
		Residuals	14	3.438	0.246		0.682	
		Total	17	5.038			1.000	
	<b>Algae</b>	Year	1	0.960	0.960	10.010	0.346	<b>0.001</b>
		Time	1	0.567	0.567	5.910	0.204	<b>0.002</b>
		Year*Time	1	0.674	0.674	7.026	0.243	<b>0.001</b>
		Residuals	6	0.575	0.096		0.207	
		Total	9	2.776			1.000	

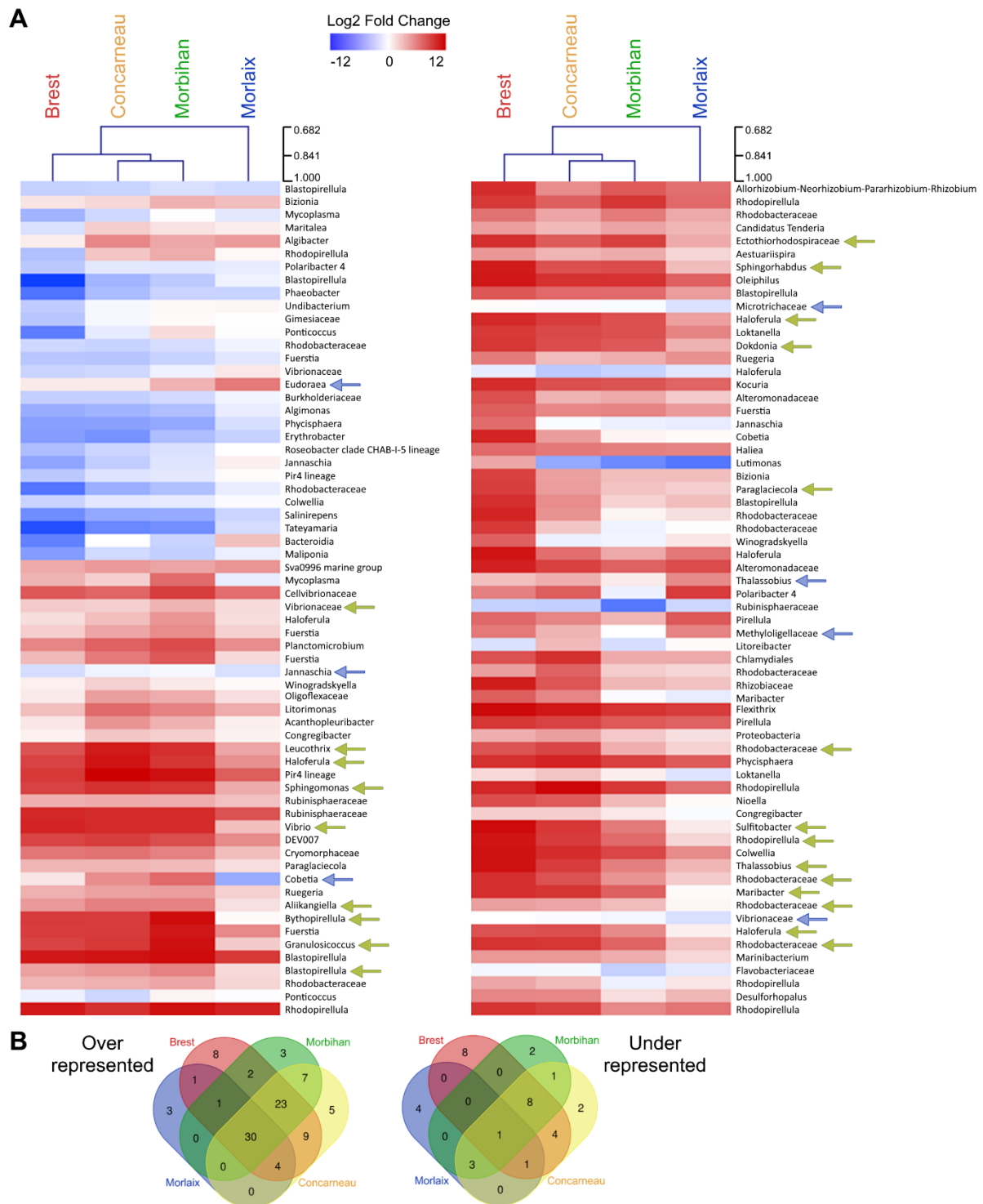
The Simpson index varied between control and oysters acclimated to green algae collected in Morbihan for the  $S_{F15}$  family at day 14, but also for control compared to infected oysters at day 17 ( $p < 0.05$ , Table S2, Figure S4 A). Pielou's evenness showed difference between control and infected oysters only. Concerning NSI, Simpson index was significantly higher for oysters acclimated to green algae from Morbihan and for infected oysters acclimated to green algae from Brest compared to control ( $p < 0.05$ , Table S3, Figure S4 B). Evenness is also higher for the condition with green algae from Morbihan compared to the control but not to infected oysters ( $p < 0.05$ , Table S2, Figure S4 B). For two green algae batches, alpha diversity is significantly different at day 14 among green algae according to their origin, as Simpson index and evenness attest it by their significant differences (Figure S4 C). Green algae from Concarneau differ from those of Morbihan and Morlaix (Table S4), as also illustrated by bacteria Class proportions (Figure S3).

OTU with significant differential representation in terms of relative abundances were listed and sorted by their fold change distances obtained after comparison with the controls. First, bacterial communities (200 most abundant OTUs) for oysters maintained with green algae from Brest in 2018 and 2020 were analyzed at the genera level at 14 days of acclimation to algae and during virus exposure. Between 2018 and 2020, 23 OTUs are commonly over-represented compared to their respective controls at 14 days (Figure 5A and 5B).



**Figure 5.** Heatmaps of the bacterial OTUs (genera level) significantly modified in oysters after the acclimation to green algae from the Brest site in 2018 and in 2020 (A). Significant changes in taxa were evaluated by DEseq after 14 days of acclimation (algae vs control for each year). OTUs are classified according to the value of DEseq fold change (higher to lower). Venn diagram of specific and common significantly over and under-represented OTUs in NSI oysters after acclimatation with green algae from Brest compared to controls in 2018 and 2020 (B).

In addition, there are more OTUs differentially represented in oysters acclimated with green algae from Brest in 2020 with 71 in total and 48 specific (compared to 3 specific OTUs in 2018). Afterwards, we determined bacterial genera with significant differential representation for green algae from different locations compared to their control at 14 days (Figure 6A and 6B). Here again, there are more over-representation of OTUs compared to controls than under-representation. A total of 30 over-represented OTUs are shared by all oysters acclimated to algae, while 23 OTU are specifically over-represented in conditions of AC. Oysters exposed to algae from EC have 3 specific over-represented and 4 under-represented OTUs.

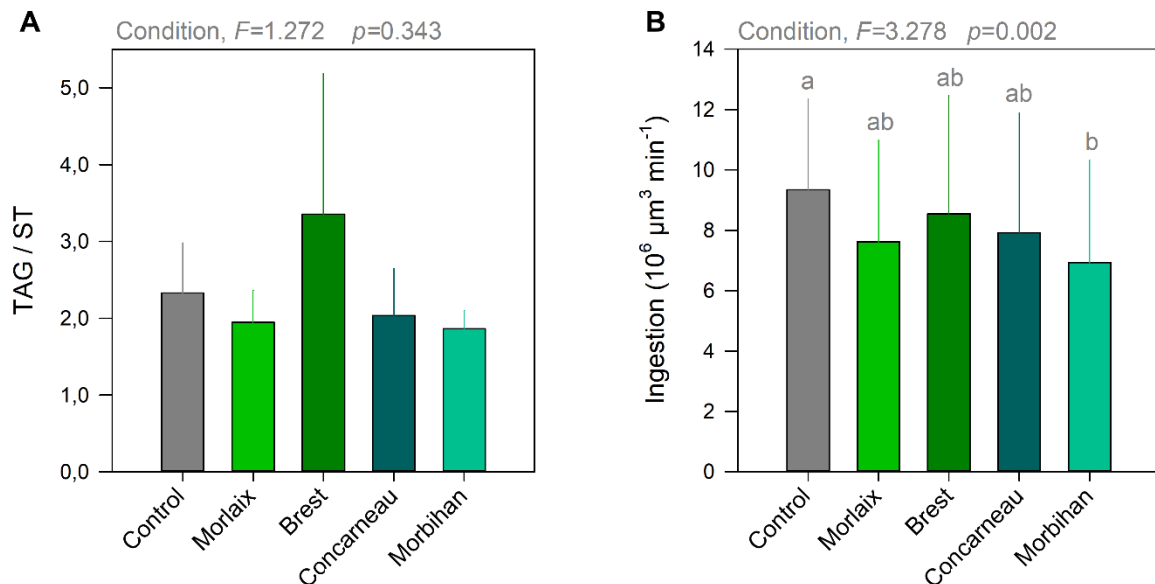


**Figure 6.** Heatmaps of the bacterial OTUs (genera level) significantly modified in oysters after the acclimation to green algae from different sites in 2020 (A). Significant changes in taxa were evaluated by DESeq after 14 days of acclimation (algae vs control). OTUs are classified according to a clustering (HLC tree) based on the values of DESeq fold change. Blue arrows indicate OTUs with significant differential over and under-representation, specific for the condition with algae from the EC site (Morlaix). Green arrows highlight the 23 OTUs significantly over-represented in AC conditions. Venn diagram of specific and common significantly over and under-represented OTUs in NSI oysters after acclimation with green algae from different geographical locations compared to controls in 2020 (B).

III.4. Gross physiology of oysters after acclimation to green algae

Lipid reserves of NSI oysters were not affected by the presence of green algae (Figure 7A). Indeed, TAG/ST ratio was similar among conditions, suggesting that oysters were in equivalent health states after 14 days of acclimation.

Concerning food ingestion of NSI oysters, controls held without algae got higher values than oysters acclimated to green algae from Morbihan ( $p = 0.002$ , Figure 7B), but no other differences were found with other conditions.



**Figure 7.** Energetic response in NSI at 14 d of acclimation with green algae. Lipid reserves (TAG/ST) (A) and ingestion rates of oysters (B). Colors correspond to green algae batches origin. Data are means  $\pm$  SD,  $n=3$  replicate tanks on the acclimation period.

#### IV. Discussion

Here we found that green algae from different locations decreased survival of oysters from different lines exposed to OsHV-1, and induced a change in their microbiome as reported in our previous work (Dugeny et al., 2022).

Both lines seem to be impacted similarly by the acclimation to Atlantic (AC) green algae, having higher mortalities. For the  $S_{F15}$  oyster line, this mortality is higher because of the susceptible nature of its phenotype (de Lorgeril et al., 2018). However, the effect of green algae from the English Channel (EC) is lower on both lines.

The microbiome disruption induced by green algae is similar for the three AC sites, but weaker for EC algae. Thus, bacteria commonly over-represented in oysters acclimated to all algae may not be responsible for strong microbiome community shifts and decreased survival of oysters facing OsHv-1. Conversely, among the 23 over-represented OTUs shared by AC algae, might be candidates associated to dysbiosis and higher mortality. This might include potentially pathogen or opportunistic bacteria. We can highlight that the genus *Vibrio* was found differentially over-represented in these conditions while the *Vibrionaceae* family was under-represented in the EC condition. The *Vibrio* genus contains species that can be pathogen and occurs in marine and aquatic areas, in association with animals (Igbinosa and Okoh, 2008). This genus have been already shown to contain pathogens (Schmitt et al., 2012a; Lemire et al., 2015; Le Roux et al., 2016; Lokmer et al., 2016a) and to be associated to POMS (Petton et al., 2015; de Lorgeril et al., 2018; King et al., 2019a; Clerissi et al., 2020). Most of other significantly varying genera are bacteria commonly found in marine environments. It is also noteworthy that here, we did not observe clear differences between the two lines of oysters in terms of associated bacterial community composition, as other works did before (de Lorgeril et al., 2018; King et al., 2019b; Clerissi et al., 2020).



While the effects of AC green algae are similar, the algae of the EC had no effect on oyster survival compared to control and a lower effect on oyster microbiota. This condition, however, was subject to an important inter-tank variability. This lower effect of EC green algae also reflects on the bacterial community compositions of both lines. This could be linked to specific bacterial taxa only differentially represented in oysters acclimated to EC algae. There are 3 over-represented OTUs corresponding to the genera *Thalassobius*, *Eudoraea* and *Methyloligellaceae* while 4 OTUs are under-represented and concern the genera *Cobetia*, *Microtrichaceae*, *Jannaschia* and the family of *Vibrionaceae*. The hydrodynamic features of the EC and the North AC of France may constitute a physical barrier shaping gene flow and resulting in genetically distinct algae populations with contrasted phenotypes (Billot et al., 2003). This could also affect their microbiome, as geographic variations of algal microbiomes have been observed (Marzinelli et al., 2015), which in consequence could affect their influence on the oyster microbiome.

The microbiome disruption induced by green algae from the bay of Brest is distinct between both experiments (2018 vs 2020) but follows the same dynamic. This suggests that the effect of green algae is somewhat temporally stable. Analyses of differentially represented OTUs revealed that, with exception for 3 OTUs, the same 23 genera were over-represented in 2020 compared to 2018, with addition of 45 more. Considering the aggravating effect on survival for both years, this may be linked to bacteria belonging to some of these common groups.

The destabilization induced within the oyster microbiota was similar between the AC algae and between the two experiments and the characteristics of these disturbed bacterial communities were deterministically affected. Similar to the present case, a recent study has revealed a deterministic evolution of the microbiome in a coral pathobiome (Sweet et al., 2019). Deterministic modification opposes the Anna Karenina Principle (Zaneveld et al., 2017).

However, within the same condition, the destabilization of the microbiota due to algae results in a greater dispersion than the control oysters, indicating more differences in the composition of the bacterial communities. Thus the Anna Karenina Principle (Zaneveld et al., 2017) may still be partially verified here.

During OsHV-1 infection in oysters, tissue damage can promote colonization of a wide variety of opportunistic bacteria (de Lorgeril et al., 2018). In our case, lower survival of oysters was linked to prior microbiota destabilization. This suggests that, due to exposition to green algae oysters have a destabilized microbiome at the start and potentially a weakened health state. Oysters subsequently infected with OsHV-1 are less resistant than those not exposed to green algae. However, in contact with the EC green algae, oyster microbiota were less modified and survival was close to control, again suggesting a clear link between the oysters' microbiota and survival in a disease context. The exact process at the origin of this disturbance remains to be elucidated. Indeed, benign endosymbionts can become opportunistically harmful to the host due to a stress during a disturbance, as established by the Rasputin effect (Overstreet and Lotz, 2016). Opportunistic bacteria could also come from the algal epibiotic communities and be transmitted to the oysters, since algae host highly complex and dynamic microbial communities (Egan et al., 2013; Egan et al., 2014, Singh and Reddy, 2014).

Reports of disease syndromes are increasing in marine environments and their incidence have been detected in marine organisms including marine seaweeds, seagrass, corals, molluscs and echinoderms and marine vertebrates, during the last four decades (Harvell et al., 2002; Ward and Lafferty, 2004; Harvell et al., 2004; Lafferty et al., 2004; Bourne et al., 2009; Gachon et al., 2010; Egan and Gardiner, 2016). Growing evidence is emerging to suggest that diseases may result from an imbalance in the microbiome, with dysbiosis increasing opportunistic or

polymicrobial infections, which challenges the simple view of a single pathogen (Lesser et al., 2007; Burge et al., 2013; Egan et al., 2014; Egan and Gardiner, 2016).

The present work suggests that cohabitation of oysters and green algae may lead to disruption of the bacterial microbiota in oysters and increase susceptibility to disease. These findings may allow to advise oyster farmers on the management of green algae in their exploitations, to foster the sustainability of their activity and the yield through healthier oysters. They also highlight the necessity of considering biotic interactions in the environmental component that modulates the disease risk in ecosystems and shift the host-pathogen-environment equilibrium.

## V. Supplementary information

**Table S1.** Two-way PERMANOVAs testing the effect of conditions on bacterial microbiota of oysters (lines gathered by condition) at 14 days and 17 days for the condition with green algae from Brest.

<b>Pairs</b>	<b>Df</b>	<b>Sum of Square</b>	<b>F</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>P</b>
<b>Acclimation</b>					
Control vs Morlaix	1	0.377	4.164	0.294	<b>0.0028</b>
Control vs Brest	1	0.989	14.378	0.590	<b>0.0025</b>
Control vs Concarneau	1	1.094	16.306	0.620	<b>0.0027</b>
Control vs Morbihan	1	1.435	18.532	0.650	<b>0.0022</b>
Morlaix vs Brest	1	0.692	7.058	0.414	<b>0.0021</b>
Morlaix vs Concarneau	1	0.716	7.430	0.426	<b>0.0016</b>
Morlaix vs Morbihan	1	0.812	7.608	0.432	<b>0.0016</b>
Brest vs Concarneau	1	0.303	4.053	0.288	<b>0.0022</b>
Brest vs Morbihan	1	0.762	8.962	0.473	<b>0.0022</b>
Concarneau vs Morbihan	1	0.484	5.813	0.368	<b>0.0018</b>
<b>Virus exposure</b>					
Control vs Brest 17 d	1	1.800	23.203	0.699	<b>0.0023</b>
Morlaix vs Brest 17 d	1	1.222	11.446	0.534	<b>0.0023</b>
Brest vs Brest 17 d	1	0.660	7.756	0.437	<b>0.0035</b>
Concarneau vs Brest 17 d	1	1.102	13.212	0.569	<b>0.0027</b>
Morbihan vs Brest 17d	1	1.190	12.692	0.559	<b>0.0026</b>

**Table S2.** Kruskal-Wallis rank sum test followed by a post-hoc test (Dunn). Values presented are P-values from comparisons between conditions on alpha diversity indices of oysters  $S_{F15}$  acclimated for 14 d and for oysters exposed to OSHV-1 after an acclimation with green algae from Brest at 17 d.

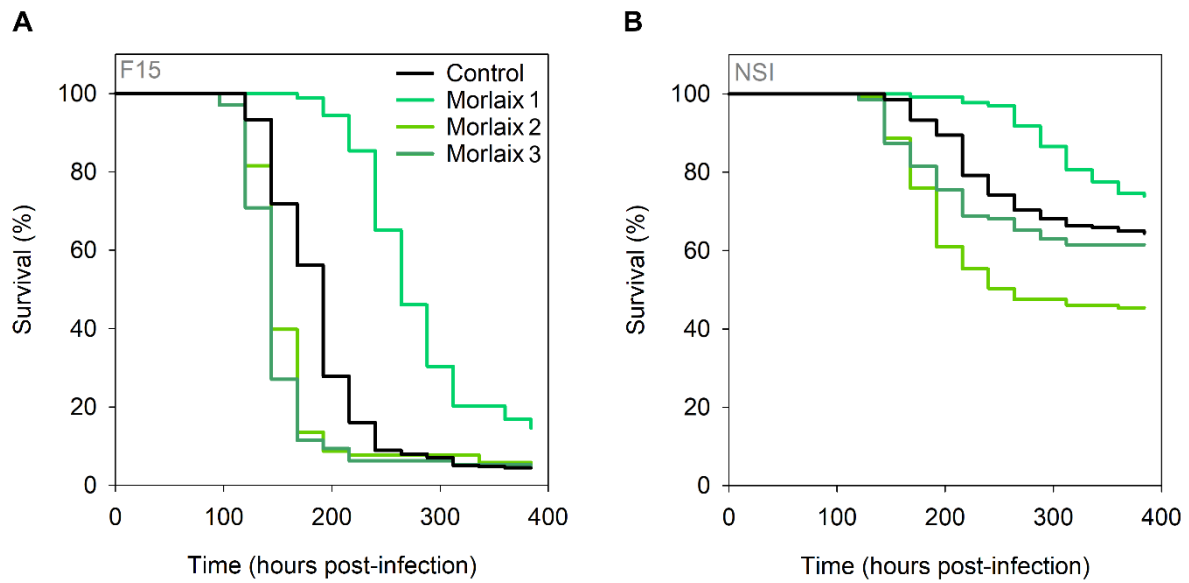
<b>Simpson</b>	Control	Morlaix	Brest	Concarneau	Morbihan
<b>Acclimation</b>					
Morlaix	0.1406				
Brest	0.1892	0.4706			
Concarneau	0.2031	0.5116	0.4695		
Morbihan	<b>0.0175</b>	0.1567	0.1452	0.1508	
<b>Virus exposure</b>					
Brest 17 d	<b>0.0214</b>	0.2707	0.1828	0.1581	0.5068
<b>Eveness (Pielou)</b>	Control	Morlaix	Brest	Concarneau	Morbihan
<b>Acclimation</b>					
Morlaix	0.1624				
Brest	0.3418	0.2370			
Concarneau	0.2356	0.3463	0.3379		
Morbihan	0.0558	0.2133	0.0806	0.1577	
<b>Virus exposure</b>					
Brest 17 d	<b>0.0436</b>	0.2446	0.0877	0.1807	0.4392

**Table S3.** Kruskal-Wallis rank sum test followed by a post-hoc test (Dunn). Values presented are P-values from comparisons between conditions on alpha diversity indices of oysters NSI acclimated for 14 d and for oysters exposed to OSHV-1 after an acclimation with green algae from Brest at 17 d.

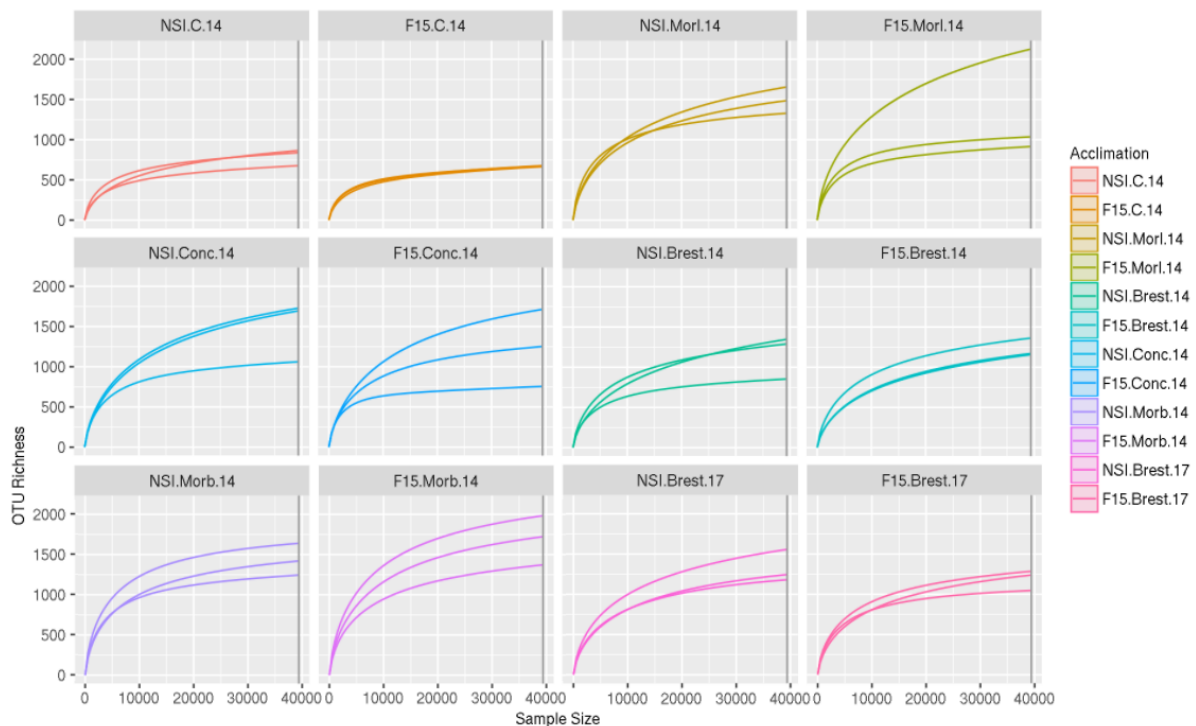
<b>Simpson</b>	Control	Morlaix	Brest	Concarneau	Morbihan
<b>Acclimation</b>					
Morlaix	0.1452				
Brest	0.1581	0.4695			
Concarneau	0.1387	0.4051	0.4070		
Morbihan	<b>0.0076</b>	0.1170	0.1048	0.1354	
<b>Virus exposure</b>					
Brest 17 d	<b>0.0279</b>	0.1807	0.1613	0.2183	0.3379
<b>Eveness (Pielou)</b>	Control	Morlaix	Brest	Concarneau	Morbihan
<b>Acclimation</b>					
Morlaix	0.1474				
Brest	0.2370	0.3071			
Concarneau	0.1567	0.3798	0.3762		
Morbihan	<b>0.0099</b>	0.1828	0.0806	0.1179	
<b>Virus exposure</b>					
Brest 17 d	0.0666	0.3119	0.1815	0.2691	0.2729

**Table S4.** Kruskal-Wallis comparisons between conditions on alpha diversity indices of algae after 14 days of experiment.

<b>Simpson</b>	Brest	Concarneau	Morbihan
<b>Origin</b>			
Concarneau	0.1849		
Morbihan	0.1307	<b>0.0261</b>	
Morlaix	0.0894	<b>0.0197</b>	0.3670
<b>Evenness (Pielou)</b>	Brest	Concarneau	Morbihan
<b>Origin</b>			
Concarneau	0.1849		
Morbihan	0.1058	<b>0.0191</b>	
Morlaix	0.1129	<b>0.0276</b>	0.4549

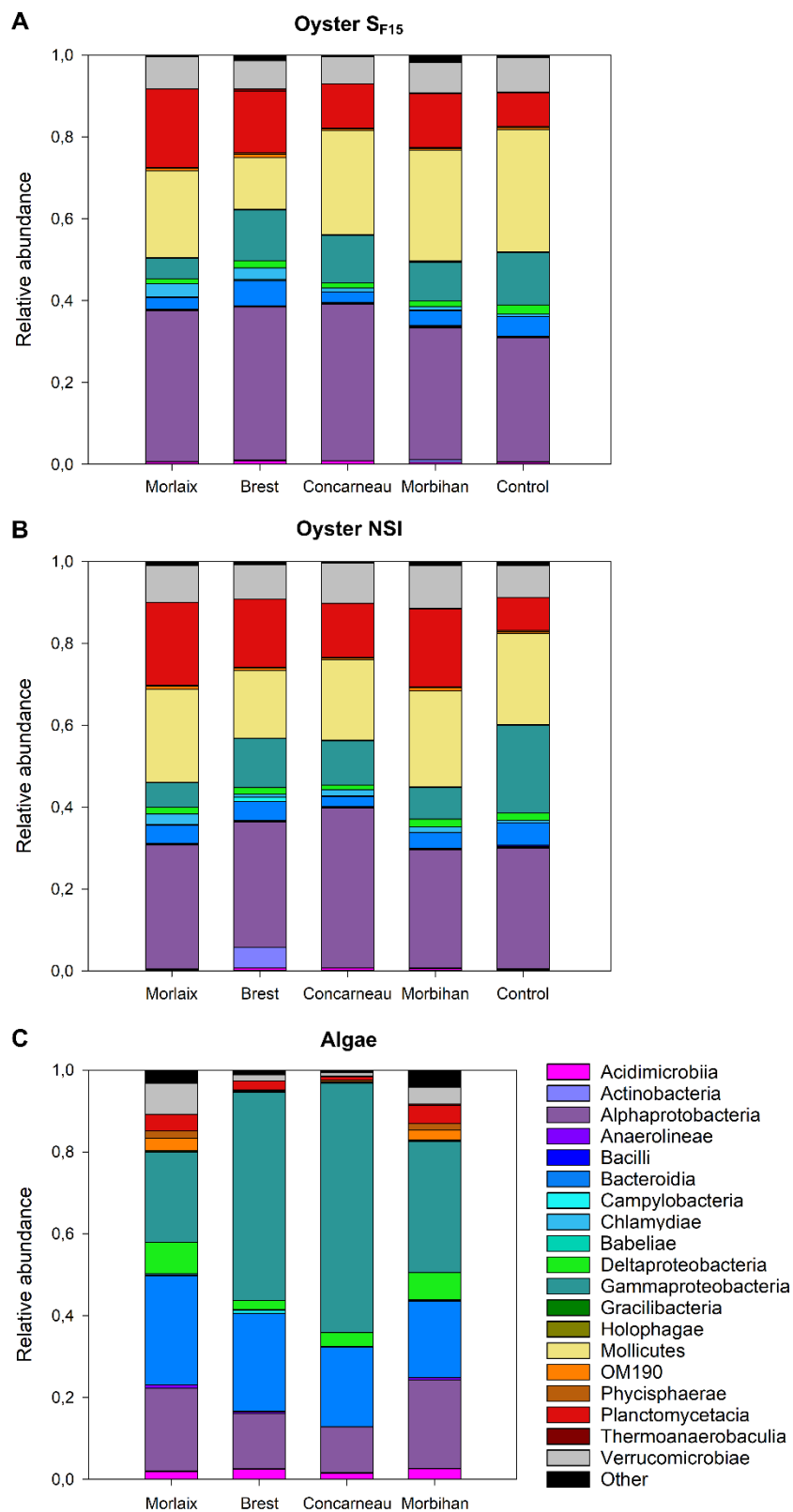


**Figure S1.** Survival of oysters exposed to OsHV-1 after acclimation with green algae from the English-Channel, for  $S_{F15}$  (A) and NSI (B). Control data are means  $\pm$  SD,  $n=3$  replicate tanks and each replicate tank of Morlaix is shown.

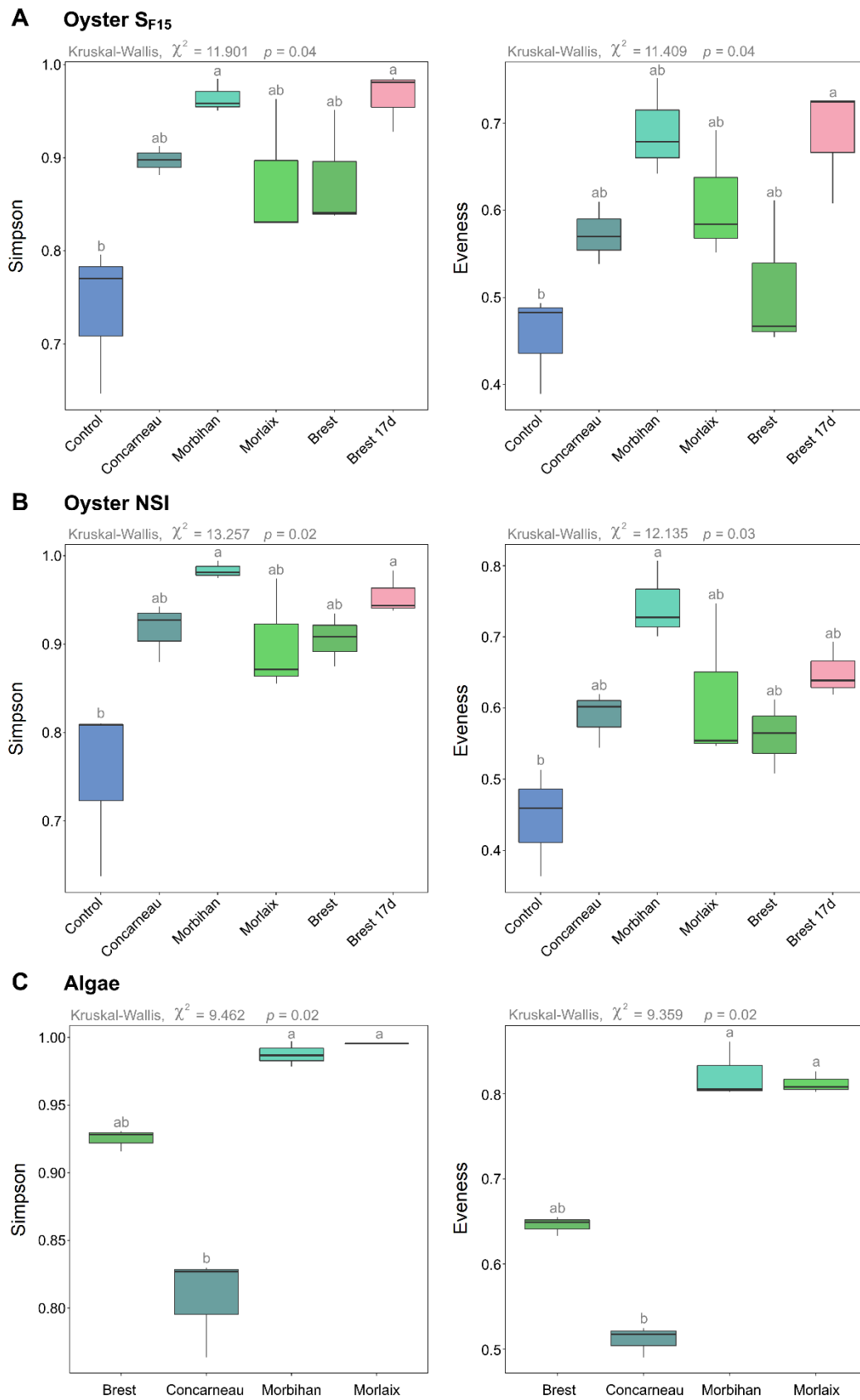


**Figure S2.** Richness rarefaction curves of the sub-sampled 16S rDNA genes dataset ( $\sim 40000$  reads per sample) showing the number of OTUs as a function of the number of sequences analyzed (sample size) for oysters (NSI and  $S_{F15}$  families) exposed to green algae at day 14 and day 17 for condition with algae from Brest. Abbreviations are made for the different conditions where triplicates results are shown for each sampling time (C: Control, Morl: Morlaix, Conc: Concarneau, Morb: Morbihan, 14: day 14, 17: day 17).





**Figure S3.** Relative abundance of bacteria (class level) in oysters acclimated with green algae from different locations and controls,  $S_{F15}$  (A), NSI (B), and in green algae (C) after 14 days of acclimation.



**Figure S4.** Alpha diversity in oysters NSI (A), S<sub>F15</sub> (B) and in algae (C) on the 14th day of acclimation. The data are means  $\pm$  SD (n=3).

## VI. References

- Arbizu, P.M., 2017. PairwiseAdonis: Pairwise Multilevel Comparison using Adonis.
- Bass, D., Stentiford, G.D., Wang, H.C., Koskella, B., Tyler, C.R., 2019. The Pathobiome in Animal and Plant Diseases. *Trends Ecol. Evol.* <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.07.012>
- Benjamini, Y., Hochberg, Y., 1995. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J. R. Stat. Soc. Ser. B* 57, 289–300. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>
- Billot, C., Engel, C.R., Rousvoal, S., Kloareg, B., Valero, M., 2003. Current patterns, habitat discontinuities and population genetic structure: The case of the kelp *Laminaria digitata* in the English channel. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 253, 111–121. <https://doi.org/10.3354/meps253111>
- Bourne, D.G., Garren, M., Work, T.M., Rosenberg, E., Smith, G.W., Harvell, C.D., 2009. Microbial disease and the coral holobiont. *Trends Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.09.004>
- Buestel, D., Ropert, M., Prou, J., Gouletquer, P., 2009. History, Status, and Future of Oyster Culture in France. *J. Shellfish Res.* 28, 813–820. <https://doi.org/10.2983/035.028.0410>
- Burge, C.A., Eakin, C.M., Friedman, C.S., Froelich, B., Hershberger, P.K., Hofmann, E.E., Petes, L.E., Prager, K.C., Weil, E., Willis, B.L., Ford, S.E., Harvell, C.D., 2014. Climate Change Influences on Marine Infectious Diseases: Implications for Management and Society 249–280. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010213-135029>
- Burge, C.A., Kim, C.J.S., Lyles, J.M., Harvell, C.D., 2013. Special Issue Oceans and Humans Health: The Ecology of Marine Opportunists. Springer. <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0190-7>
- Buttó, L.F., Schaubeck, M., Haller, D., 2015. Mechanisms of microbe-host interaction in Crohn's disease: Dysbiosis vs. Pathobiont Selection. *Front. Immunol.* <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00555>
- Charlier, R.H., Morand, P., Finkl, C.W., Thys, A., 2006. Green tides on the Brittany coasts, in: 2006 IEEE US/EU Baltic International Symposium, BALTIC 2006. Institute of Electrical and Electronics Engineers Inc. <https://doi.org/10.1109/BALTIC.2006.7266128>
- Clerissi, C., de Lorgeril, J., Petton, B., Lucasson, A., Escoubas, J.-M., Gueguen, Y., Dégremont, L., Mitta, G., Toulza, E., 2020. Microbiota Composition and Evenness Predict Survival Rate of Oysters Confronted to Pacific Oyster Mortality Syndrome. *Front. Microbiol.* 11, 311. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00311>
- Cox, D.R., 1972. Regression Models and Life-Tables. *J. R. Stat. Soc. Ser. B* 34, 187–202. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1972.tb00899.x>
- de Lorgeril, J., Lucasson, A., Petton, B., Toulza, E., Montagnani, C., Clerissi, C., Vidal-Dupiol, J., Chaparro, C., Galinier, R., Escoubas, J.-M., Haffner, P., Dégremont, L., Charrière, G.M., Lafont, M., Delort, A., Vergnes, A., Chiarello, M., Faury, N., Rubio, T., Leroy, M.A., Pérignon, A., Régler, D., Morga, B., Alunno-Bruscia, M., Boudry, P., Le Roux, F., Destoumieux-Garzón, D., Gueguen, Y., Mitta, G., 2018. Immune-suppression by OsHV-1

- viral infection causes fatal bacteraemia in Pacific oysters. *Nat. Commun.* 9, 4215. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06659-3>
- Dinno, A., 2017. *Dunn.test: Dunn's Test of Multiple Comparisons Using Rank Sums*.
- Donaldson, G.P., Lee, S.M., Mazmanian, S.K., 2015. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat. Rev. Microbiol.* <https://doi.org/10.1038/nrmicro3552>
- Dugeny, E., de Lorgeril, J., Petton, B., Toulza, E., Gueguen, Y., Pernet, F., 2022. Seaweeds influence oyster microbiota and disease susceptibility. *J. Anim. Ecol.* 00, 1-14 <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13662>
- Egan, S., Fernandes, N.D., Kumar, V., Gardiner, M., Thomas, T., 2014. Bacterial pathogens, virulence mechanism and host defence in marine macroalgae. *Environ. Microbiol.* 16, 925–938. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12288>
- Egan, S., Gardiner, M., 2016. Microbial dysbiosis: Rethinking disease in marine ecosystems. *Front. Microbiol.* 7, 991. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00991>
- Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S., Thomas, T., 2013. The seaweed holobiont: understanding seaweed–bacteria interactions. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 462–476. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12011>
- Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Hernandez-Raquet, G., Combes, S., Pascal, G., 2018. FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution. *Bioinformatics* 34, 1287–1294. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx791>
- Fraser, A.J., 1989. Triacylglycerol Content as a Condition Index for Fish, Bivalve, and Crustacean Larvae. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46, 1868–1873. <https://doi.org/10.1139/f89-235>
- Gachon, C.M.M., Sime-Ngando, T., Strittmatter, M., Chambouvet, A., Kim, G.H., 2010. Algal diseases: Spotlight on a black box. *Trends Plant Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.08.005>
- Gouletquer, P., Heral, M., 1997. Marine Molluscan Production Trends in France: From Fisheries to Aquaculture, NOAA Tech. Rep. NMFS. NOAA.
- Green, T.J., Barnes, A.C., 2010. Bacterial diversity of the digestive gland of Sydney rock oysters, *Saccostrea glomerata* infected with the paramyxean parasite, *Marteilia sydneyi*. *J. Appl. Microbiol.* 109, 613–622. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04687.x>
- Hajishengallis, G., Lamont, R.J., 2016. Dancing with the Stars: How Choreographed Bacterial Interactions Dictate Nososymbiocity and Give Rise to Keystone Pathogens, Accessory Pathogens, and Pathobionts. *Trends Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.02.010>
- Harvell, C.D., Mitchell, C.E., Ward, J.R., Altizer, S., Dobson, A.P., Ostfeld, R.S., Samuel, M.D., 2002. Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science* (80-. ). <https://doi.org/10.1126/science.1063699>
- Harvell, D., Aronson, R., Baron, N., Connell, J., Dobson, A., Ellner, S., Gerber, L., Kim, K., Kuris, A., McCallum, H., Lafferty, K., McKay, B., Porter, J., Pascual, M., Smith, G., Sutherland, K., Ward, J., 2004. The rising tide of ocean diseases: unsolved problems and research

- priorities, *Frontiers in Ecology and the Environment*. John Wiley & Sons, Ltd. [https://doi.org/10.1890/1540-9295\(2004\)002\[0375:TRTOOD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1540-9295(2004)002[0375:TRTOOD]2.0.CO;2)
- Igbinosa, E.O., Okoh, A.I., 2008. Emerging *Vibrio* species: an unending threat to public health in developing countries. *Res. Microbiol.* 159, 495–506. <https://doi.org/10.1016/J.RESMIC.2008.07.001>
- King, W.L., Jenkins, C., Go, J., Siboni, N., Seymour, J.R., Labbate, M., 2019a. Characterisation of the Pacific Oyster Microbiome During a Summer Mortality Event. *Microb. Ecol.* 77, 502–512. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1226-9>
- King, W.L., Jenkins, C., Seymour, J.R., Labbate, M., 2019b. Oyster disease in a changing environment: Decrypting the link between pathogen, microbiome and environment. *Mar. Environ. Res.* 143, 124–140. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.11.007>
- King, W.L., Siboni, N., Williams, N.L.R., Kahlke, T., Nguyen, K.V., Jenkins, C., Dove, M., O'Connor, W., Seymour, J.R., Labbate, M., King, W.L., Kahlke, T., Williams, N.L.R., Seymour, J.R., Dove, M., Siboni, N., Nguyen, K.V., O'Connor, W., Labbate, M., 2019c. Variability in the composition of pacific oyster microbiomes across oyster families exhibiting different levels of susceptibility to OsHV-1  $\mu$ var disease. *Front. Microbiol.* 10, 473. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00473>
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., Glöckner, F.O., 2013. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res.* 41, e1–e1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
- Lafferty, K.D., Porter, J.W., Ford, S.E., 2004. Are Diseases Increasing in the Ocean? *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35, 31–54. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.35.021103.105704>
- Le Roux, F., Wegner, K.M., Polz, M.F., 2016. Oysters and Vibrios as a Model for Disease Dynamics in Wild Animals. *Trends Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.006>
- Legatzki, A., Rösler, B., von Mutius, E., 2014. Microbiome Diversity and Asthma and Allergy Risk. *Curr. Allergy Asthma Rep.* <https://doi.org/10.1007/s11882-014-0466-0>
- Lemire, A., Goudenège, D., Versigny, T., Petton, B., Calteau, A., Labreuche, Y., Le Roux, F., 2015. Populations, not clones, are the unit of vibrio pathogenesis in naturally infected oysters. *ISME J.* 9, 1523–1531. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.233>
- Lesser, M.P., Bythell, J.C., Gates, R.D., Johnstone, R.W., Hoegh-Guldberg, O., 2007. Are infectious diseases really killing corals? Alternative interpretations of the experimental and ecological data. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 346, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.02.015>
- Lokmer, A., Goedknegt, M.A., Thielges, D.W., Fiorentino, D., Kuenzel, S., Baines, J.F., Mathias Wegner, K., 2016a. Spatial and temporal dynamics of pacific oyster hemolymph microbiota across multiple scales. *Front. Microbiol.* 7, 1367. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01367>
- Lokmer, A., Mathias Wegner, K., 2015. Hemolymph microbiome of Pacific oysters in response to temperature, temperature stress and infection. *ISME J.* 9, 670–682. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.160>

- Lokmer, A., Wegner, K.M., Kuenzel, S., Baines, J.F., Wegner, K.M., 2016b. The role of tissue-specific microbiota in initial establishment success of Pacific oysters. *Environ. Microbiol.* 18, 970–987. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13163>
- MacKenzie, Clyde L., J., 1996. History of oystering in the United States and Canada, featuring the eight greatest oyster estuaries. *Mar. Fish. Rev.* 58, 1–78.
- Magoč, T., Salzberg, S.L., 2011. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics* 27, 2957–2963. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr507>
- Mahé, F., Rognes, T., Quince, C., de Vargas, C., Dunthorn, M., 2014. Swarm: Robust and fast clustering method for amplicon-based studies. *PeerJ* 2014, 1–13. <https://doi.org/10.7717/peerj.593>
- Martenot, C., Oden, E., Travaille, E., Malas, J.P., Houssin, M., 2011. Detection of different variants of Ostreid Herpesvirus 1 in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* between 2008 and 2010. *Virus Res.* 160, 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.04.012>
- Martin, M., 2011. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal* 17. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>
- Marzinelli, E.M., Campbell, A.H., Zozaya Valdes, E., Vergés, A., Nielsen, S., Wernberg, T., de Bettignies, T., Bennett, S., Caporaso, J.G., Thomas, T., Steinberg, P.D., 2015. Continental-scale variation in seaweed host-associated bacterial communities is a function of host condition, not geography. *Environ. Microbiol.* 17, 4078–4088. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12972>
- McMurdie, P.J., Holmes, S., 2013. Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS One* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Morand, P., Merceron, M., 2005. Macroalgal population and sustainability. *J. Coast. Res.* 21, 1009–1020. <https://doi.org/10.2112/04-700A.1>
- Nell, J.A., 2001. The History of Oyster Farming in Australia. *Mar. Fish. Rev.* 63, 14–25.
- Oksanen, J., Blanchet, F., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P.R., O’Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E., Wagner, H., 2020. Vegan: community ecology package. R Packag. Version 2. 4-6.
- Overstreet, R.M., Lotz, J.M., 2016. Host–Symbiont Relationships: Understanding the Change from Guest to Pest. Springer, Cham, pp. 27–64. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-28170-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-28170-4_2)
- Pernet, F., Lugué, K., Petton, B., 2021. Competition for food reduces disease susceptibility in a marine invertebrate. *Ecosphere* 12, e03435. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3435>
- Pernet, F., Tamayo, D., Fuhrmann, M., Petton, B., 2019. Deciphering the effect of food availability, growth and host condition on disease susceptibility in a marine invertebrate. *J. Exp. Biol.* 222. <https://doi.org/10.1242/jeb.210534>
- Petton, B., Bruto, M., James, A., Labreuche, Y., Alumno-Bruscia, M., Le Roux, F., 2015. *Crassostrea gigas* mortality in France : the usual suspect , a herpes virus , may not be the

- killer in this polymicrobial opportunistic disease 6, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00686>
- Petton, B., Pernet, F., Robert, R., Boudry, P., 2013. Temperature influence on pathogen transmission and subsequent mortalities in juvenile Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Aquac. Environ. Interact.* 3, 257–273. <https://doi.org/10.3354/aei00070>
- Pierce, M.L., Ward, J.E., Holohan, B.A., Zhao, X., Hicks, R.E., 2016. The influence of site and season on the gut and pallial fluid microbial communities of the eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Bivalvia, Ostreidae): community-level physiological profiling and genetic structure. Springer. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2405-z>
- R Core Team, R., 2020. R: A language and environment for statistical computing.
- Renault, T., Moreau, P., Faury, N., Pepin, J.-F., Segarra, A., Webb, S., 2012. Analysis of Clinical Ostreid Herpesvirus 1 (Malacoherpesviridae) Specimens by Sequencing Amplified Fragments from Three Virus Genome Areas. *J. Virol.* 86, 5942–5947. <https://doi.org/10.1128/jvi.06534-11>
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., Mahé, F., 2016. VSEARCH: A versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ* 2016, 1–22. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
- Schikorski, D., Faury, N., Pepin, J.F., Saulnier, D., Tourbiez, D., Renault, T., 2011. Experimental ostreid herpesvirus 1 infection of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: Kinetics of virus DNA detection by q-PCR in seawater and in oyster samples. *Virus Res.* 155, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.031>
- Schmitt, P., Lorget, J. de, Gueguen, Y., Destoumieux-Garzón, D., Bachère, E., 2012. Expression, tissue localization and synergy of antimicrobial peptides and proteins in the immune response of the oyster *Crassostrea gigas*. *Dev. Comp. Immunol.* 37, 363–370. <https://doi.org/10.1016/J.DCI.2012.01.004>
- Segarra, A., Pépin, J.F., Arzul, I., Morga, B., Faury, N., Renault, T., 2010. Detection and description of a particular Ostreid herpesvirus 1 genotype associated with massive mortality outbreaks of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in France in 2008. *Virus Res.* 153, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.011>
- Singh, R.P., Reddy, C.R.K., 2014. Seaweed-microbial interactions: Key functions of seaweed-associated bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 88, 213–230. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12297>
- Smetacek, V., Zingone, A., 2013. Green and golden seaweed tides on the rise. *Nature.* <https://doi.org/10.1038/nature12860>
- Suquet, M., Kermoyan, G. De, Araya, R.G., Queau, I., Lebrun, L., Souchu, P. Le, Mingant, C., 2009. Anesthesia in Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquat. Living Resour.* 22, 29–34. <https://doi.org/10.1051/alr/2009006>
- Sweet, M., Burian, A., Fifer, J., Bulling, M., Elliott, D., Raymundo, L., 2019. Compositional homogeneity in the pathobiome of a new, slow-spreading coral disease. *Microbiome* 7, 1–14. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0759-6>
- Sweet, M.J., Bulling, M.T., 2017. On the Importance of the Microbiome and Pathobiome in

- Coral Health and Disease. *Front. Mar. Sci.* 4, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00009>
- Troost, K., 2010. Causes and effects of a highly successful marine invasion: Case-study of the introduced Pacific oyster *Crassostrea gigas* in continental NW European estuaries. *J. Sea Res.* <https://doi.org/10.1016/j.seares.2010.02.004>
- Vayssier-Taussat, M., Albina, E., Citti, C., Cosson, J.-F., Jacques, M.-A., Lebrun, M.-H., Le Loir, Y., Ogliastro, M., Petit, M.-A., Roumagnac, P., Candresse, T., 2014. Shifting the paradigm from pathogens to pathobiome: new concepts in the light of meta-omics. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 4, 29. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00029>
- Ward, J.R., Lafferty, K.D., 2004. The Elusive Baseline of Marine Disease: Are Diseases in Ocean Ecosystems Increasing? *PLoS Biol.* 2, e120. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020120>
- Wegner, K.M., Volkenborn, N., Peter, H., Eiler, A., 2013. Disturbance induced decoupling between host genetics and composition of the associated microbiome. *BMC Microbiol.* 13, 252. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-252>
- Ye, N. hao, Zhang, X. wen, Mao, Y. ze, Liang, C. wei, Xu, D., Zou, J., Zhuang, Z. meng, Wang, Q. yin, 2011. "Green tides" are overwhelming the coastline of our blue planet: Taking the world's largest example. *Ecol. Res.* <https://doi.org/10.1007/s11284-011-0821-8>
- Zaneveld, J.R., McMinds, R., Thurber, R.V., 2017. Stress and stability: Applying the Anna Karenina principle to animal microbiomes. *Nat. Microbiol.* <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.121>



### **Data accessibility**

The data will be submitted as electronic supplementary material and will, upon acceptance of the manuscript, be deposited into NCBI database platform or Seanoé.

### **Authors' contributions**

E.D, B.P. and F.P. designed the study and conducted the experiment, and E.D, J.D.L., E.T. and Y.G. performed bacterial microbiota and transcriptome analyses, E.D., J.D.L., E.T., Y.G. and F.P. analyzed the data. E.D. wrote the present manuscript with the support of F.P. E.D. has been involved in all the experiments and analyses that are presented in this article.

### **Competing interests**

We declare we have no competing interests.

### **Funding**

This work was funded by the EU funded projects VIVALDI (H2020 program, n°678589) and FEDIVER (DLAL/FEAMP).

### **Acknowledgments**

We thank the Ifremer staff involved in oyster and algae production at Ifremer Argenton and Bouin. We are grateful to M. Hubert for helping with the experimental set-up, to B. Morga and N. Faury for providing viral suspension, to V. Le Roy and C. Quéré for lipid analyses, to C. Dubreuil for RNA and DNA extraction, J.-F. Allienne for supporting library construction and sequencing and we thank the BioEnvironment platform of Perpignan.

## VII. Conclusions principales

À retenir

- Nous avons étudié dans ce chapitre l'influence de communautés d'ulves, provenant de sites géographiquement dispersés autour de la Bretagne, sur le risque de maladie de naissains d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*, exposés à l'ostreid herpesvirus OsHV-1  $\mu$ Var. Nous avons également répliqué la condition de l'expérience présentée en chapitre 1 avec des algues de la rade de Brest, pour déterminer si les résultats sont reproductibles dans le temps.
- À l'exception d'un site en Bretagne Nord sur les côtes de la Manche, les algues vertes aggravent les mortalités des huîtres exposées à la maladie infectieuse.
- Toutes les communautés d'algues vertes induisent un changement dans la composition des communautés bactériennes des huîtres, même si les effets sur le microbiote sont moins importants pour celles de Manche. Parmi les genres bactériens différenciellement représentés dans les différentes conditions, le genre *Vibrio* est sur-représenté dans les conditions Atlantiques alors que la famille des *Vibrionaceae* était sous-représentée avec les algues de la Manche.
- Les algues vertes de la rade de Brest ont provoqué, comme deux ans auparavant, une moins bonne survie des huîtres, ainsi qu'une dysbiose au niveau du microbiote.
- Les causes de la déstabilisation induite par les algues vertes d'Atlantique chez les huîtres et leur microbiote restent à élucider.
- Des expériences de validation en milieu naturel sont nécessaires pour avoir une approche *in situ* de ces interactions.



# Discussion générale

---



Les maladies infectieuses influencent la structure des communautés, les réseaux trophiques, la pyramide des âges, et les interactions biotiques dans les écosystèmes (Burge et al., 2014; Lafferty et al., 2015). Le risque de maladie dépend des interactions hôte-pathogène-environnement et leur équilibre peut évoluer à la moindre fluctuation, qui modifierait la réponse de l'holobionte ou de l'agent infectieux (Burge et al., 2014). Dans ce contexte, les pressions anthropiques croissantes sur les écosystèmes augmentent la probabilité d'émergence de maladies (Harvell et al., 2004; Altizer et al., 2013), puisqu'elles perturbent la stabilité des écosystèmes et induisent de multiples stress aux organismes. Connaître les facteurs environnementaux susceptibles de faire varier cet équilibre est donc nécessaire pour la compréhension de l'évolution des épizooties. Dans cette dynamique, il apparaît, par conséquent, essentiel d'intégrer l'influence des paramètres biotiques, car les hôtes existent au sein de diverses communautés écologiques, dont les interactions ont un effet sur la transmission et l'impact des pathogènes (Dobson, 2004; Hall et al., 2007; Ben-Horin et al., 2015). Dans la composante environnementale, encore trop peu d'études se sont intéressées aux effets des interactions biotiques sur le risque de maladie et sur les relations hôte-pathogène, contrairement aux facteurs abiotiques (Ben-Horin et al., 2015).

Les travaux effectués au cours de cette thèse contribuent ainsi à combler quelques lacunes et apportent de nouveaux éléments de compréhension écologique des effets biotiques sur les interactions hôte-pathogène. En effet cette thèse s'est structurée autour de l'influence de communautés algales environnantes sur la sensibilité de l'huître creuse à l'infection virale causée par OsHV-1. Il a été mis en évidence que des interactions fines entre ces organismes durant une courte période aggravent les mortalités d'huîtres induites par le virus. Plusieurs analyses ont ainsi été réalisées pour examiner les causes potentielles de cette fragilisation chez ce bivalve et de l'augmentation de son risque de maladie.

## I. Influence des algues vertes *Ulva spp.* sur les huîtres

### I.1. Caractérisation de l'effet des algues vertes sur les organismes

#### I.1.1) Effet des algues vertes sur *C. gigas* en contexte infectieux

Dans nos expériences en milieu contrôlé, nous avons observé, par rapport à des animaux contrôles, des mortalités deux fois plus importantes de jeunes huîtres *C. gigas*, durant une infection par OsHV-1, dès lors qu'elles étaient exposées à des algues vertes du genre *Ulva*. Cet effet a été vérifié avec plusieurs assemblages d'ulves provenant de zones géographiques différentes et à deux années d'intervalle pour une même localisation. En plus de cette spatialisation et de cette réplique temporelle, ces observations ont été faites sur deux lots d'huîtres différents, comprenant un panel contrasté en termes de sensibilité aux pathogènes. Comme précédemment discuté, ce phénomène peut s'expliquer par un contexte aggravant de la maladie induite et un POMS accentué. En effet, dans les individus acclimatés aux algues vertes, la prévalence du virus s'est avérée être supérieure, suggérant une réplique virale plus grande. De plus une déstabilisation du microbiote de l'huître s'est déclenchée, ainsi qu'une augmentation de l'expression de gènes liés à l'immunité de l'animal.

D'une part, les algues vertes ont induit chez l'huître une dysbiose précoce, par un changement dans la structure et la composition des communautés microbiennes, avant exposition à OsHV-1. Cela a eu pour conséquence une augmentation de la diversité bactérienne et une modification de sa réponse face à la maladie polymicrobienne, tout en la rendant plus sensible à l'infection. Des récents travaux montrent qu'en cas de stress environnemental, dérèglement immunitaire ou infection pathogène, de nombreux microbiomes associés aux animaux présentent une dispersion accrue en termes de composition de communautés dans le développement précoce et chez les adultes, selon le 'principe Anna Karenine' (Zaneveld et al., 2017). Contrairement aux prédictions en association avec ce principe, nous avons constaté

dans notre cas que la modification du microbiote de l'huître serait plutôt déterministe. En effet, les modifications qui s'opèrent au niveau des communautés bactériennes sont proches en termes de déstabilisation pour les algues de la côte Atlantique, qui augmentent les mortalités. Par ailleurs, les changements obtenus dans la composition des communautés microbiotiques des huîtres acclimatées aux algues de la Manche sont moins marqués que dans les conditions Atlantique et leur composition est moins éloignée des huîtres témoins, n'ayant pas connu d'algues. Peu de genres bactériens sont spécifiquement différentiellement représentés uniquement dans cette condition, mais la différence réside peut-être dans ceux qui varient communément dans les conditions avec les algues de l'Atlantique. Beaucoup de genres bactériens, significativement sur-représentés par rapport aux témoins, ressortent commun dans les trois sites Atlantique. En particulier, le genre *Vibrio* a été retrouvé significativement surreprésenté dans ces conditions, tandis que la famille des *Vibrionaceae* était significativement sous-représentée pour les huîtres acclimatées aux algues de Manche. *Vibrio* est un genre connu comme contenant de potentiels pathogènes de l'huître (Schmitt et al., 2012a; Lemire et al., 2015; Le Roux et al., 2016; Lokmer et al., 2016a) et certains candidats sont impliqués dans le syndrome de mortalité de l'huître du Pacifique POMS (Petton et al., 2015; de Lorgeril et al., 2018; King et al., 2019a; Clerissi et al., 2020). Ces éléments peuvent conforter l'idée que l'état du microbiote des huîtres serait déstabilisé par les algues ce qui pourrait expliquer une survie affectée.

Par ailleurs, les genres bactériens différentiellement exprimés dans notre étude sont différents des autres travaux qui ont étudié le microbiote de naissains d'huître creuse exposés à OsHV-1 et en contexte de POMS. Cela peut possiblement s'expliquer par différentes méthodes d'infection utilisées, pour induire la maladie chez les huîtres. Dans les travaux de de Lorgeril (2018), par exemple, les donneurs ont été déployés dans une zone d'élevage

pendant la période infectieuse jusqu'à l'apparition des premières mortalités, puis ils ont été transférés au laboratoire et mis en contact avec des huîtres réceptrices exemptes de pathogènes, dans un environnement contrôlé. Certains genres bactériens émergent au cours de l'infection en raison de l'exposition avec ces huîtres infectées dans un environnement naturel. Dans notre cas, les donneurs utilisés étaient des huîtres SPF qui ont été infectées par injection directe d'une suspension virale d'OsHV-1 en laboratoire. Ainsi, les communautés bactériennes de ces donneurs étaient différentes de celles déployées sur le terrain.

Concernant spécifiquement les communautés bactériennes des algues, elles semblent être relativement stables géographiquement. Cela a aussi été observé dans une étude qui a mis en lumière que l'état de l'hôte est une plus grande source de variation pour la structure du microbiote, que l'emplacement géographique (Marzinelli et al., 2015). Des différences résident tout de même, d'une année sur l'autre, dans nos expériences et peuvent s'expliquer par les variations saisonnières entre un phénotype de printemps et un phénotype d'été des ulves (Ogawa et al., 2013), les récoltes ayant eu lieu à des mois différents. En effet, même si le microbiote associé aux macroalgues semble relativement stable géographiquement (Marzinelli et al., 2015), il est sujet à des variations saisonnières (Serebryakova et al., 2018). Ce trait pourrait expliquer les différences observées au niveau de la réponse du microbiote de l'huître exposée aux algues vertes, entre les deux années testées.

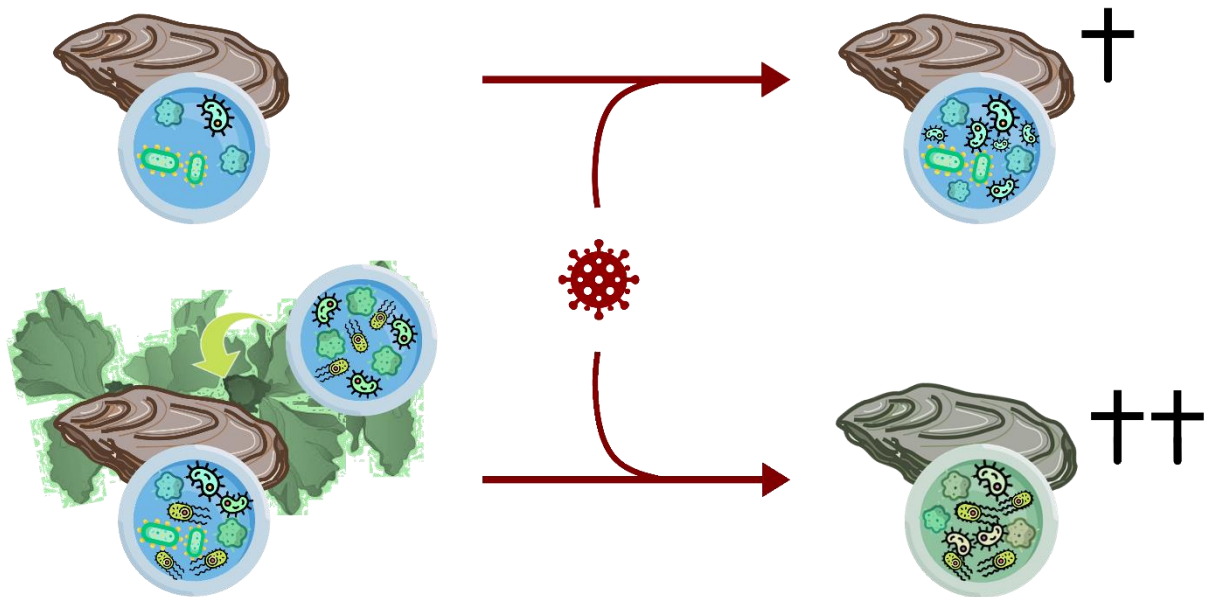
Nous avons également constaté que les huîtres acclimatées aux algues vertes surexpriment certains gènes, principalement liés aux mécanismes de défense à une perturbation. Parmi ces gènes, certains codent pour l'expression d'enzymes du système phénoloxydase, retrouvées dans les hémocytes de *C. gigas* et impliquées dans les réponses immunitaires, antioxydantes et de détoxification chez les bivalves, en ayant potentiellement un rôle protecteur contre les



infections bactériennes en agissant, entre autres, sur des bactéries pathogènes (Luna-Acosta et al., 2010; Luna-Acosta et al., 2017; Quinn et al., 2020). Le système de synthèse de l'enzyme phénoloxydase, stimulé par un stress cellulaire, intervient pour la mélanisation des pathogènes et des tissus endommagés (Cerenius and Soderhall, 2004; Hellio et al., 2007). Par conséquent, l'expression de ces gènes de défense suggère que l'huître répond à un stress bactérien, possiblement engendré par la dysbiose, mise en évidence chez les individus côtoyant les algues vertes. Cette observation soutient donc la dysbiose comme conséquence majeure de l'effet des algues vertes sur les huîtres en plus de la diminution de la survie face à la maladie.

Tous ces éléments nous permettent aujourd'hui de conclure sur un effet aggravant des algues vertes *Ulva spp.* sur le risque de maladie de l'huître creuse. Les causes de cette influence restent à déterminer plus précisément.

Néanmoins, une hypothèse ressortant de ces observations serait que le microbiote des huîtres, perturbé en présence de ces algues vertes, place les animaux dans un état de lutte contre des émergences bactériennes, mobilisant ainsi leur énergie et leur système immunitaire inné, ce qui les rendrait plus vulnérable à une infection par OsHV-1. La venue d'OsHV-1 provoquant un stade immunodéprimé de l'animal, par infection des hémocytes, provoquerait une incapacité à produire des peptides antimicrobiens pour se défendre des bactéries déjà bien présentes, ce qui accélérerait le processus du POMS et engendrerait une mortalité plus importante (Figure 1).



**Figure 1.** Schéma hypothétique de la dysbiose induite par des algues vertes chez des huîtres *C. gigas*, résultant en une mortalité aggravée en contexte d'infection par l'ostreid herpesvirus OsHV-1, responsable du POMS (d'après la Banque d'images SMART ©SERVIER et le site d'icônes ©Flaticon ©Dimitry Miroljubov) ©Élyne Dugény.

### 1.1.2) Effets connus des algues vertes sur d'autres organismes marins

Exposer des naissains d'huîtres creuses à des communautés d'ulves en milieu contrôlé peut fragiliser ces animaux et les impacter dans leur résistance aux maladies, comme nos divers résultats peuvent en témoigner. Il est important de confronter ces résultats à d'autres études qui se sont intéressées aux effets des algues vertes sur plusieurs modèles animaux. Des effets nocifs des algues vertes ont été constatés chez des organismes de la macrofaune benthique en cas d'eutrophisation et de grandes proliférations algales, qui affectent la richesse spécifique (Quillien et al., 2015; Wang et al., 2020). Plusieurs travaux relatent une influence néfaste de ces algues, notamment sur des balanes, dont une mortalité plus grande a été mesurée à proximité d'ulves (Magre, 2008), sur des crabes, à cause de la production d'exsudats toxiques et de faibles teneurs en dioxygène (Johnson and Welsh, 1985), sur des littorines jaunes, en causant de la mortalité (Peckol and Putnam, 2017) et même sur des larves d'huîtres, dont le développement a été arrêté par la présence d'extraits d'ulves à cause de

leurs propriétés allélopathiques (Nelson et al., 2003). Les auteurs de ces différentes études concluent souvent sur la toxicité des algues du genre *Ulva*, mais l'état du microbiote des animaux n'a pas été étudié comme dans nos expériences. Il se peut que dans certaines de ces études, le microbiote des organismes étudiés ait joué un rôle important.

Cependant dans certains cas en aquaculture, les algues vertes sont utilisées à des fins d'alimentation pour nourrir les élevages. Dans le cas de crevettes, les algues vertes du genre *Ulva* mises en co-culture avec les crustacés influencent leur microbiote, mais en favorisant certaines bactéries connues pour avoir des propriétés probiotiques et en éliminant de potentiels pathogènes (Mangott et al., 2020). De plus, elles améliorent leur résistance aux maladies bactériennes et virales en stimulant leur réponse immunitaire (Anaya-Rosas et al., 2019). Elles induisent donc, comme pour l'huître, des changements dans les communautés microbiotiques de l'animal, mais l'effet sur les maladies semble être contraire à nos observations chez les naissains. Par ailleurs, des différences de mécanismes de défense immunitaire peuvent exister entre les huîtres et les crevettes, qui possèdent des molécules immunitaires propres aux crustacés (Destoumieux, 1998; Vazquez et al., 2009). Ces deux espèces diffèrent également dans leur mode trophique. En l'occurrence, les crevettes se nourrissent directement à la surface des thalles des algues et sont donc accoutumées à ce type de régime alimentaire et aux microbes qu'il contient.

Dans une autre étude, des algues vertes *Ulva lactuca* ont été utilisées en détritux unicellulaire comme alternative pour nourrir les huîtres *C. gigas* (Alberto et al., 2020). L'utilisation de ces composés a modifié la composition microbiologique de l'huître, a diminué l'activité enzymatique des lipases à cause de la faible teneur en lipides et a augmenté l'activité des enzymes impliquées dans la digestion des glucides. Les auteurs concluent sur une utilisation

possible de ces composés unicellulaires détritiques à des fins d'élevage pour l'ostréiculture et en alternative aux microalgues communément employées, il n'y a pas eu de tests par rapport à la résistance aux pathogènes par la suite. Par ailleurs, la fabrication de tels composés détritiques devrait complètement dénaturer l'algue, qui ne serait plus représentative des communautés du milieu naturel.

## 1.2. Causes probables de la perturbation induite par les algues vertes

Dans le cas où la mortalité accrue des huîtres en présence de pathogènes résulterait bien de la dysbiose causée par les algues dans nos expériences, deux explications plausibles existent.

D'une part, il peut s'agir d'un partage de bactéries des algues aux huîtres, puisqu'elles hébergent des communautés microbiennes très complexes et dynamiques (Egan et al., 2008; Egan et al., 2013; Hollants et al., 2013; Singh and Reddy, 2014). La visualisation des compositions microbiotiques dans l'espace d'ordination de nos résultats montre une similitude plus rapprochée dans les communautés bactériennes entre les algues vertes et les huîtres acclimatées à ces assemblages d'algues vertes. Cela pourrait suggérer un transfert bactérien, rapprochant ainsi leur microbiome respectif en termes de similarité. Des transferts horizontaux de bactéries entre l'environnement et des hôtes végétaux et animaux peuvent jouer un rôle important dans la structure microbiote symbiotique des organismes (Nyholm and McFall-Ngai, 2004; Bright and Bulgheresi, 2010; van Veelen et al., 2017). Dans notre cas, les algues auraient donc pu effectuer un transfert horizontal d'une partie de leur microbiote bactérien à l'huître.

D'autre part, la deuxième explication serait une sélection de bactéries résistantes à des substances toxiques de l'algue. La production de métabolites secondaires par les thalles d'*Ulva* spp. et de ses bactéries *Vibrio* associées, qui ont des propriétés antibactériennes, antivirales,

antioxydantes et anti-inflammatoires peut avoir des effets sur les animaux environnants (Harder et al., 2004; Thanigaivel et al., 2016; Anaya-Rosas et al., 2019). Il a aussi été démontré que la production secondaire de métabolites affecte profondément le microbiote épiphytique chez les algues (Paix et al., 2019; Paix et al., 2020). Ainsi, ces substances macromoléculaires toxiques et nocives pourraient perturber le microbiote des organismes et engendrer une dysbiose, entraînant la fragilisation de l'hôte, l'activation de sa réponse à un stress et potentiellement une augmentation de son risque de maladie et des mortalités. Cet effet toxique des algues pourrait générer un filtre de sélection s'appliquant sur les communautés microbiotiques, favorisant ainsi les bactéries résistantes dans le microbiote de l'huître. Ces bactéries pourraient être potentiellement les mêmes que celles retrouvées sur l'algue.

Dans les deux cas, cette dysbiose témoigne d'un effet néfaste, puisqu'en parallèle s'opère une augmentation du risque de maladie de l'huître, qui se trouve certainement fragilisée et doit lutter contre la perturbation. L'huître n'est pas physiologiquement affectée mais elle met en place une réponse qui se traduit par des changements dans le transcriptome et l'expression des gènes de défense, pour lutter contre des pathogènes, ou encore des opportunistes devenus néfastes au sein du microbiote. En effet, des pathogènes opportunistes auraient pu émerger de la dysbiose, sans nécessairement donner une prolifération visible sur la quantité de bactéries totale. Une perturbation d'intensité intermédiaire peut accroître la biodiversité des communautés, permettant aux espèces de coexister sans être nécessairement exclues (Connell, 1978; Sousa, 1979). Une hypothèse qui pourrait également s'appliquer aux communautés bactériennes (Buckling et al., 2000).

Ainsi, ces endosymbiontes, bénins à l'origine, prolifèreraient de manière opportuniste au détriment des autres espèces, selon un « effet Raspoutine » (Overstreet and Lotz, 2016) et deviendraient nuisibles (Lesser et al., 2007; Burge et al., 2013; Egan et al., 2014; Egan and Gardiner, 2016). Dans l'infection déclenchée par OsHV-1, de profonds changements dans le microbiote associé aux huîtres se produisent, suivis d'une septicémie. La colonisation par les bactéries opportunistes est inféodée au processus infectieux et mène à la mort des huîtres, en intervenant secondairement (de Lorgeril et al., 2018). En conséquence, les individus dysbiotiques endurent la colonisation opportuniste de bactéries avant une infection par OsHV-1 peuvent être plus sensibles à la maladie, puisque les organismes avec des variations plus élevées dans la composition de communautés microbiennes sont *à priori* plus sensibles aux agents pathogènes que les individus sains (Zaneveld et al., 2017).

Les composés allélopathiques émis par les algues pourraient aussi affecter directement l'huître et son homéostasie, faisant de la dysbiose une conséquence de la perturbation de l'hôte. Cependant, dans nos résultats des **Chapitre 1** et **Chapitre 2**, les conditions physiologiques de l'huître (ratio TAG/ST et ingestion) n'ont pas été plus altérées que celles qui n'ont pas interagit avec les algues vertes, ce qui va plutôt à l'encontre de ce raisonnement. De surcroît, l'activation de la transcription de gènes de défense contre des pathogènes est plus en faveur de la déstabilisation du microbiote comme impact majeur des algues vertes sur les huîtres.

Les causes des effets néfastes des algues vertes chez l'huître restent donc à élucider, pour mieux connaître les phénomènes impliqués dans ces interactions, mais il semble qu'une dysbiose et une survie plus faible soient corrélées dans cette dynamique d'interaction hôte-pathogène-algue.

### I.3. Propositions d'études complémentaires en milieu contrôlé

À ce stade, il n'est pas possible de clairement trancher entre les deux principaux processus énoncés précédemment. Pour élucider s'il y a un effet toxique de l'algue, s'appliquant sur le microbiote de l'huître, ou s'il y a un échange bactérien, une possibilité serait d'exclure le microbiote de l'algue verte dans de futures expériences. Cela permettrait d'avoir uniquement l'effet de potentielles substances toxiques émises par l'algue. Si aucune déstabilisation du microbiote de l'huître n'est observée, cela pourrait valider la présence d'un transfert horizontal de bactéries, de l'algue à l'huître, pendant l'acclimatation.

Pour s'affranchir du microbiote, l'utilisation d'antibiotique sur les algues pourrait être envisagée. Nous avons déjà essayé d'utiliser le thiamphénicol dans une expérience, sans succès. Le chloramphénicol et le thiamphénicol sont des antibiotiques appartenant à la famille des phénicols, avec un large spectre d'action sur les bactéries (Brock, 1961). Ce type d'antibiotique était couramment utilisé dans les pêcheries pour contrôler les maladies bactériennes (Ho et al., 2000). Ils agissent en inhibant la synthèse des protéines bactériennes en se liant à la sous-unité ribosomale 50S (Dowling, 2013). Cependant, le chloramphénicol est interdit d'utilisation en thérapeutique animale en Europe depuis 1994, en raison de sa toxicité (Varma, 1994), nécessitant des produits de substitution. Nous avons plongé certaines cohortes d'algues vertes, dans deux bains de thiamphénicol pendant deux jours chacun, pour les débarrasser de la plupart de leurs bactéries associées. Nous ne sommes cependant pas parvenus à abattre les communautés présentes de cette manière au vu des étalements sur milieu de culture Marine Bros et TCBS et de la similarité obtenue pour ces lots avec les compositions bactériennes des algues non traitées, mais la manipulation mériterait d'être renouvelée à l'avenir.

Une autre manière de s'affranchir des bactéries, qui pourraient cheminer de l'algue aux huîtres, serait l'utilisation de lampes UV pour stériliser l'eau entre les bassins contenant les algues vertes et les bassins receveurs hébergeant les naissains (Kelly, 1961; Brown and Russo, 1979; Liltved and Cripps, 1999). Ainsi seuls les éventuels composés chimiques seraient transmis aux huîtres receveuses.

## II. Caractériser l'influence des algues vertes en milieu naturel

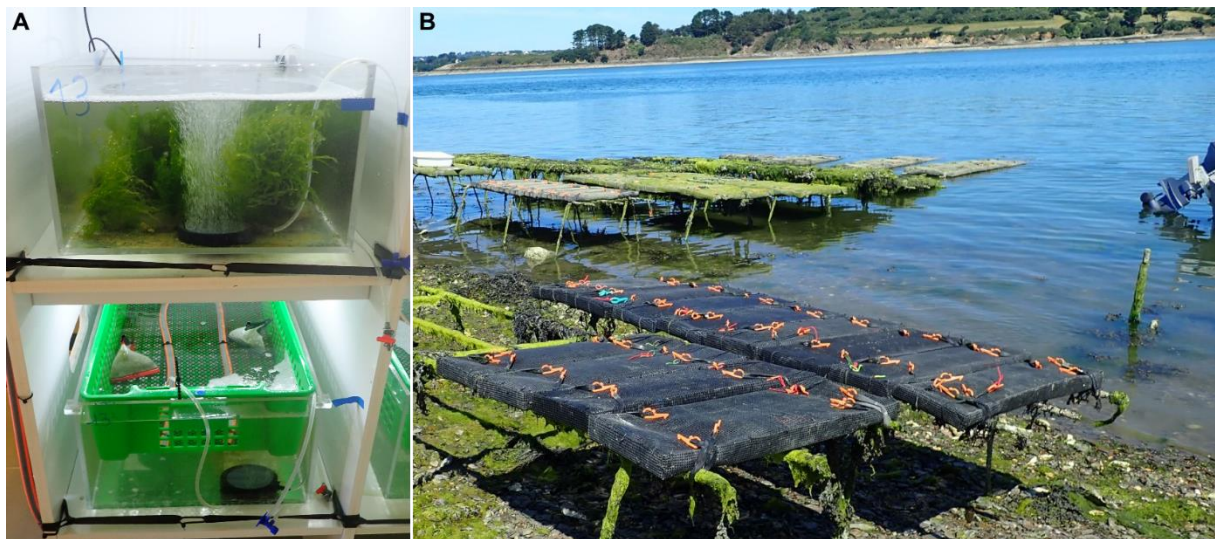
### II.1. Réalisme du terrain quant à l'interaction entre huîtres et algues vertes

Bien que des études sur le terrain aient montré que la prolifération des algues vertes a des répercussions dramatiques sur les communautés macro-zoobenthiques et microbiennes (Quillien et al., 2015; Wang et al., 2020), il n'y a pas à ce jour de lien établi entre les algues vertes et l'aggravation des maladies marines. Nos résultats, obtenus en milieu contrôlé, suggèrent que les proliférations d'algues vertes, de plus en plus fréquentes dans le monde entier en raison de l'eutrophisation (Smith et al., 1999; Ye et al., 2011; Smetacek and Zingone, 2013), pourraient avoir des conséquences sur les interactions huîtres-pathogènes et sur le risque de maladie. Afin de replacer toutes ces observations dans un contexte épidémiologique réaliste, une validation terrain semble indispensable pour s'approcher au plus près de la réalité des effets de ces interactions dans les écosystèmes. Cela dans un but de compréhension des phénomènes naturels et de pouvoir éventuellement élaborer de meilleures mesures de gestion des exploitations conchylicoles dans l'environnement marin.

Dans une autre expérience, nous avons acclimaté des naissains d'huîtres creuses à des communautés d'algues vertes de la rade de Brest en milieu contrôlé, mais cette fois, pour évaluer les effets sur la survie dans un contexte d'épizootie en milieu naturel.



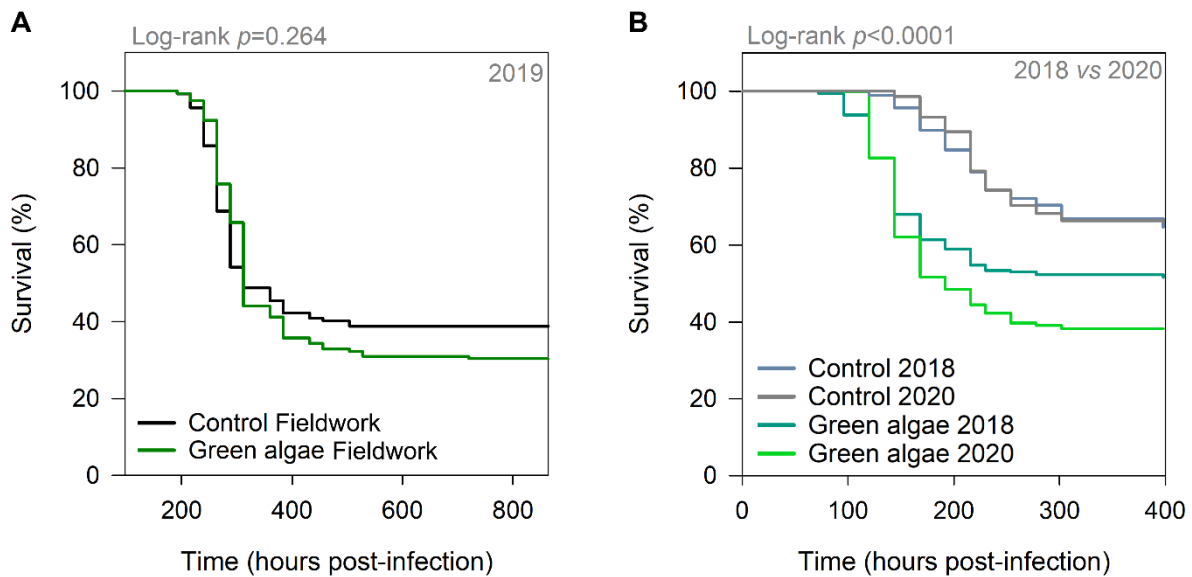
Pour se faire, plusieurs lots de NSI<sup>11</sup> ont été placés en contact avec les algues vertes, dans une salle d'expérimentation pendant une période d'acclimatation de deux semaines. Des huîtres contrôles sont restées sans algues durant cette phase, comme pour les deux expériences présentées dans les **Chapitre 1** et **Chapitre 2** (Figure 2A). A l'issue de ces deux semaines, les huîtres ont été déployées sur le terrain le 15 juillet 2019, à la pointe du Château de Logonna-Daoulas (48°20'06.2"N 4°19'08.2"W), en période infectieuse induite par l'ostreid herpevirus lors de son apparition saisonnière (Figure 2B).



**Figure 2.** (A) Acclimatation en milieu contrôlé de naissains d'huîtres creuses âgées de 4 mois à des communautés d'algues vertes prélevées en Rade de Brest à l'Anse du Roz (48°19'22.2"N 4°19'09.0"W) dans une salle expérimentale du site d'Argenton (Ifremer). (B) Déploiement de poches ostréicoles contenant les naissains d'huîtres, conditionnés en milieu contrôlé, sur site d'étude en Rade de Brest à la pointe du Château de Logonna-Daoulas (48°20'06.2"N 4°19'08.2"W). ©Élyne Dugény

La survie des huîtres a par la suite été mesurée, en comptabilisant les mortalités au cours de l'été, pour en évaluer la dynamique et déceler l'éventuelle influence des algues vertes sur les naissains. Il s'est avéré que les résultats n'ont pas donné de différences significatives après la campagne de suivi des mortalités (Figure 3A).

<sup>11</sup> Naissain Standardisé Ifremer (NSI)



**Figure 3.** Survie des huîtres exposées à OsHV-1 après deux semaines d’acclimatation avec des algues vertes de la rade de Brest **(A)** déployées sur le terrain et **(B)** en milieu contrôlé pour les expériences 2018 (Chapitre 1) et 2020 (Chapitre 2). Les données sont moyennées sur  $n=3$  bassins répliqués.

Il est à noter ici que ce suivi de mortalités de terrain montre une survie plus faible pour les huîtres contrôles (39%, Figure 3A), que ce que nous avons pu mesurer dans nos expériences de 2018 et de 2020 (66% and 64%, Figure 3B). Il est ainsi probable que les différents signaux induits par l’acclimatation des huîtres en milieu contrôlé aient été masqués par des facteurs confondants, propres au site d’étude, comme la charge en herpesvirus dans l’eau de mer. Les charges virales sont toujours difficiles à évaluer en milieu naturel (Evans et al., 2014), mais une charge plus importante que ce qui est habituellement utilisé en laboratoire pourrait niveler par le bas la survie des huîtres déployées et gommer les différences entre les conditions d’acclimatation.

Nous ne détenons pas les résultats de la composition des communautés microbiennes des lots d’huîtres utilisés dans cette expérience, mais il est plausible que l’apport microbien du terrain diffère de celui qu’ont connu les animaux dans la salle expérimentale, en milieu contrôlé. Si une dysbiose s’est produite chez les huîtres acclimatées aux algues vertes pendant la phase en salle, elle a peut-être été effacée par le déploiement en milieu naturel. La biomasse des

algues environnantes n'est sans doute pas comparable à celle utilisée pendant la manipulation expérimentale. Les algues présentes dans l'exploitation ostréicole peuvent aussi interférer et influencer l'expérience, bien que leur abondance ne reflète pas un contexte de grande prolifération d'algues vertes. Cependant il est aussi probable que le nouvel apport microbien du terrain ait contribué à fragiliser tous les lots, quelque soient leurs conditions d'acclimatation préalables.

## II.2. Proposition d'étude complémentaire à mener par la suite

Les observations faites en milieu contrôlé en laboratoire n'ont pas encore été vérifiées sur le terrain. Ces résultats montrent l'importance de mener plus d'études spatialisées en milieu naturel. A l'avenir, il faudrait envisager une étude épidémiologique à grande échelle en sélectionnant plusieurs sites contrastés, en termes de proliférations d'algues vertes, pour mettre en place un suivi de mortalité de jeunes huîtres dans ces différents contextes. L'épidémiologie spatiale permet la description et l'analyse des variations géographiques d'une maladie par rapport aux paramètres environnementaux et permet de comprendre les facteurs qui régissent la répartition et le taux de propagation des infections (Pernet et al., 2016a). Elle est, de ce fait, incontournable pour la compréhension et l'étude de la transmission des épizooties (Ostfeld et al., 2005). Cette approche doit être couplée à un suivi sur plusieurs années pour obtenir l'évolution spatio-temporelle des processus en jeu. L'idéal serait alors de couvrir un éventail de conditions allant de sites peu impactés par les proliférations d'algues vertes à des sites fortement impactés par des « marées vertes » pour être en mesure de pouvoir définir des facteurs de risques de l'ordre du biotique. Cela permettra ensuite d'être capable de proposer de meilleures méthodes de gestion des concessions ostréicoles et de pouvoir potentiellement apporter des conseils et de l'expertise sur des aspects d'exploitation durable dans l'environnement, pour pallier les problèmes de déséquilibres écosystémiques.

### III. Conclusion générale

Les études menées dans le cadre de cette thèse ont été réalisées en milieu contrôlé, avec des paramètres fixes, des huîtres nourries *ad libitum* et en s'affranchissant de multiples facteurs de variation de l'environnement. Néanmoins, le milieu marin est un environnement ouvert, complexe, dynamique, en constante mouvance et sujet à de nombreux changements rendant difficiles les possibilités d'action contre les pathogènes.

La conchyliculture, qui est une activité socio-économique de grande importance et dont dépendent de nombreux acteurs dans le monde (FAO, 2020), est particulièrement vulnérable à une augmentation de la fréquence des maladies (Lafferty et al., 2015). Spécifiquement, l'ostréiculture mondiale a été ponctuée d'épizooties (MacKenzie and Clyde, 1996; Gouletquer and Heral, 1997; Nell, 2001; Buestel et al., 2009; Troost, 2010) et le syndrome de mortalité de l'huître du Pacifique, associé à l'infection par l'ostreid herpesvirus OsHV-1  $\mu$ Var (Segarra et al., 2010), pose aujourd'hui un défi majeur pour la production mondiale d'huître creuse *C. gigas*. Il est donc primordial de mieux connaître les facteurs de risque qui modulent son efficacité à se répandre. Ce travail de thèse offre une vision plus holistique d'une épizootie marine et y apporte la perspective de l'holobionte en soulignant l'importance de considérer les interactions biotiques dans les études des processus infectieux et de ce qui peut perturber l'équilibre hôte-pathogène-environnement. Il s'intègre dans un élan de compréhension de cette composante biotique des facteurs environnementaux, pouvant intervenir sur un organisme hôte face aux maladies. Les expériences réalisées ont montré que des algues vertes peuvent modifier le microbiote bactérien, la réponse immunitaire et la survie, par leur influence sur le risque de maladie des huîtres creuses, faisant face à l'infection polymicrobienne induite par OsHV-1. Elles permettent ainsi d'étendre le concept de pathobiome au-delà des agents pathogènes reconnus. Le rôle des microorganismes dans la

fonction, la performance, l'interaction et le contexte écologique d'un organisme hôte est largement sous-estimé aujourd'hui et donc encore mal compris (Borja et al., 2020). Réévaluer les processus écosystémiques selon le paradigme de l'holobionte marin fait partie des grands défis qui permettent aujourd'hui d'évaluer les avancées de la Recherche et qui méritent d'être étudiés de manière plus approfondie (Borja et al., 2020).

De plus, ce travail s'inscrit dans des approches EcoHealth et One Health. Ces deux approches remettent en cause le réductionnisme traditionnel de l'application biomédicale en situant la santé des organismes dans son contexte écologique plus large (King, 2013; Zinsstag, 2016; Harrison et al., 2019). Elles sont plutôt employées d'un point de vue anthropique, en visant à comprendre les liens entre le bien-être humain, animal et environnemental pour une santé commune (Zinsstag, 2013; Lerner and Berg, 2017). Cependant, de la même manière, notre travail considère l'interaction hôte-pathogène de l'huître *Crassostrea gigas* et de l'ostreid herpes virus OsHV-1  $\mu$ var, mise en œuvre dans un écosystème complexe et dynamique. Il s'agit d'étendre la considération d'une maladie aux facteurs biotiques environnementaux, en prenant en compte les communautés environnantes. Dans un monde bousculé par les pressions anthropiques, la perte d'espaces disponibles au vivant à cause de la fragmentation des habitats, le déclin de la biodiversité, le changement climatique et toutes les conséquences engendrées, les milieux font face à un déséquilibre écosystémique et des émergences de maladies de plus en plus fréquentes et virulentes (Harvell et al., 2004; Altizer et al., 2013; Burge et al., 2014). Dans cette optique, les fortes proliférations d'algues vertes opportunistes sont dues justement à de riches apports de d'effluents d'origines anthropiques et sont caractéristiques d'écosystèmes perturbés et pollués, ce qui engendre une perte de biodiversité locale et de services écosystémiques en conséquence (Ceccherelli et al., 2018; Duarte and Krause-Jensen, 2018; Heiskanen et al., 2019). Il est donc primordial aujourd'hui de

tout mettre en œuvre pour pallier ces menaces et de comprendre les grands enjeux qui opèrent déjà et façonneront l'avenir de la biosphère.



# Références

---





## A

---

- Abbas, A., Lichtman, A., Masson, P., Pillai, S., SCOTT, J., 2016. Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique.
- Abraham, C., Cho, J.H., 2009. Inflammatory Bowel Disease, *N Engl J Med*.
- Addadi, L., Joester, D., Nudelman, F., Weiner, S., 2006. Mollusk shell formation: A source of new concepts for understanding biomineralization processes. *Chem. - A Eur. J.* 12, 980–987. <https://doi.org/10.1002/chem.200500980>
- Alberto, P.R., Gabriela, M.A., Regina, E.G., Gabriela, M.C., Dariel, T.R., Cristina, E.F., 2020. Seaweed single cell detritus effects on the digestive enzymes activity and microbiota of the oyster *Crassostrea gigas*. *J. Appl. Phycol.* 32, 3481–3493. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02167-4>
- Allam, B., Raftos, D., 2015. Immune responses to infectious diseases in bivalves. *J. Invertebr. Pathol.* <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.05.005>
- Altizer, S., Ostfeld, R.S., Johnson, P.T.J., Kutz, S., Harvell, C.D., 2013. Climate change and infectious diseases: From evidence to a predictive framework. *Science* (80- ). <https://doi.org/10.1126/science.1239401>
- Amsler, C.D., 2008. Algal chemical ecology, *Algal Chemical Ecology*. Springer, Berlin, Heidelberg, Birmingham. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-74181-7>
- Anaya-Rosas, R.E., Rivas-Vega, M.E., Miranda-Baeza, A., Piña-Valdez, P., Nieves-Soto, M., 2019. Effects of a co-culture of marine algae and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on the growth, survival and immune response of shrimp infected with *Vibrio parahaemolyticus* and white spot virus (WSSV). *Fish Shellfish Immunol.* 87, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.12.071>
- Anders, S., Pyl, P.T., Huber, W., 2015. HTSeq-A Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* 31, 166–169. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu638>
- Anderson, R.S., 1994. Hemocyte-derived reactive oxygen intermediate production in four bivalve mollusks. *Dev. Comp. Immunol.* 18, 89–96. [https://doi.org/10.1016/0145-305X\(94\)90237-2](https://doi.org/10.1016/0145-305X(94)90237-2)
- Angeler, D.G., Allen, C.R., 2016. Quantifying resilience. *J. Appl. Ecol.* 53, 617–624. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12649>
- Arbizu, P.M., 2017. PairwiseAdonis: Pairwise Multilevel Comparison using Adonis.
- Arthur, R.F., Gurley, E.S., Salje, H., Bloomfield, L.S.P., Jones, J.H., 2017. Contact structure, mobility, environmental impact and behaviour: The importance of social forces to infectious disease dynamics and disease ecology. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0454>
- Arzul, I., Corbeil, S., Morga, B., Renault, T., 2017. Viruses infecting marine molluscs. *J. Invertebr. Pathol.* 147, 118–135. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2017.01.009>
- Arzul, I., Nicolas, J.L., Davison, A.J., Renault, T., 2001. French scallops: A new host for ostreid herpesvirus-1. *Virology* 290, 342–349. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1186>
- Austin Farley, C., Banfield, W.G., Kasnic, G., Foster, W.S., 1972. Oyster herpes-type virus. *Science* (80- ). 178, 759–760. <https://doi.org/10.1126/science.178.4062.759>

Azéma, P., Travers, M.A., De Lorgeril, J., Tourbiez, D., Dégremont, L., 2015. Can selection for resistance to OsHV-1 infection modify susceptibility to *Vibrio aestuarianus* infection in *Crassostrea gigas*? First insights from experimental challenges using primary and successive exposures. *Vet. Res.* 46. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0282-0>

## B

Baedke, J., Fábregas-Tejeda, A., Delgado, A.N., 2020. The holobiont concept before Margulis. *J. Exp. Zool. Part B Mol. Dev. Evol.* 334, 149–155. <https://doi.org/10.1002/JEZ.B.22931>

Barbosa Solomieu, V., Renault, T., Travers, M.A., 2015. Mass mortality in bivalves and the intricate case of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Invertebr. Pathol.* 131, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.011>

Bass, D., Stentiford, G.D., Wang, H.C., Koskella, B., Tyler, C.R., 2019. The Pathobiome in Animal and Plant Diseases. *Trends Ecol. Evol.* <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.07.012>

Batista, F.M., López-Sanmartín, M., Grade, A., Morgado, I., Valente, M., Navas, J.I., Power, D.M., Ruano, F., 2015. Sequence variation in ostreid herpesvirus 1 microvar isolates detected in dying and asymptomatic *Crassostrea angulata* adults in the Iberian Peninsula: Insights into viral origin and spread. *Aquaculture* 435, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.016>

Bayne, B.L., 2017. *Biology of oysters.*

Beck, M.W., Brumbaugh, R.D., Airoidi, L., Carranza, A., Coen, L.D., Crawford, C., Defeo, O., Edgar, G.J., Hancock, B., Kay, M.C., Lenihan, H.S., Luckenbach, M.W., Toropova, C.L., Zhang, G., Guo, X., 2011. Oyster Reefs at Risk and Recommendations for Conservation, Restoration, and Management. *Bioscience* 61, 107–116. <https://doi.org/10.1525/bio.2011.61.2.5>

Beesley, A., Lowe, D., Pascoe, C., Widdicombe, S., 2008. Effects of CO<sub>2</sub>-induced seawater acidification on the health of *Mytilus edulis*. *Clim. Res.* 37, 215–225. <https://doi.org/10.3354/cr00765>

Ben-Horin, T., Bidegain, G., Huey, L., Narvaez, D.A., Bushek, D., 2015. Parasite transmission through suspension feeding. *J. Invertebr. Pathol.* 131, 155–176. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.006>

Benjamini, Y., Hochberg, Y., 1995. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J. R. Stat. Soc. Ser. B* 57, 289–300. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>

Berthelin, C., Kellner, K., Mathieu, M., 2000. Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (West Coast of France). *Comp. Biochem. Physiol. - B Biochem. Mol. Biol.* 125, 359–369. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(99\)00187-X](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(99)00187-X)

Besednova, N.N., Andryukov, B.G., Zaporozhets, T.S., Kryzhanovsky, S.P., Kuznetsova, T.A., Fedyanina, L.N., Makarenkova, I.D., Zvyagintseva, T.N., 2020. Algae Polyphenolic Compounds and Modern Antibacterial Strategies: Current Achievements and Immediate Prospects. *Biomedicines* 8, 342. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8090342>

Bibby, R., Widdicombe, S., Parry, H., Spicer, J., Pipe, R., 2008. Effects of ocean acidification on the immune response of the blue mussel *Mytilus edulis*. *Aquat. Biol.* 2, 67–74. <https://doi.org/10.3354/ab00037>

Billot, C., Engel, C.R., Rousvoal, S., Kloareg, B., Valero, M., 2003. Current patterns, habitat discontinuities and population genetic structure: The case of the kelp *Laminaria digitata* in the English channel. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 253, 111–121. <https://doi.org/10.3354/meps253111>

- Bock, W.J., 1980. The definition and recognition of biological adaptation. *Integr. Comp. Biol.* 20, 217–227. <https://doi.org/10.1093/ICB/20.1.217>
- Boettcher, K.J., Geaghan, K.K., Maloy, A.P., Barber, B.J., 2005. *Roseovarius crassostreae* sp. nov., a member of the *Roseobacter* clade and the apparent cause of juvenile oyster disease (JOD) in cultured Eastern oysters. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, 1531–1537. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63620-0>
- Bordenstein, S.R., Theis, K.R., 2015. Host Biology in Light of the Microbiome: Ten Principles of Holobionts and Hologenomes. *PLOS Biol.* 13, e1002226. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.1002226>
- Borer, E.T., Mitchell, C.E., Power, A.G., Seabloom, E.W., 2009. Consumers indirectly increase infection risk in grassland food webs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 503–506. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0808778106>
- Borja, A., Andersen, J.H., Arvanitidis, C.D., Basset, A., Buhl-Mortensen, L., Carvalho, S., Dafforn, K.A., Devlin, M.J., Escobar-Briones, E.G., Grenz, C., Harder, T., Katsanevakis, S., Liu, D., Metaxas, A., Morán, X.A.G., Newton, A., Piroddi, C., Pochon, X., Queirós, A.M., Snelgrove, P.V.R., Solidoro, C., St. John, M.A., Teixeira, H., 2020. Past and Future Grand Challenges in Marine Ecosystem Ecology. *Front. Mar. Sci.* 7, 362. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00362>
- Borst, A.C.W., Verberk, W.C.E.P., Angelini, C., Schotanus, J., Wolters, J.-W., Christianen, M.J.A., van der Zee, E.M., Derksen-Hooijberg, M., van der Heide, T., 2018. Foundation species enhance food web complexity through non-trophic facilitation. *PLoS One* 13, e0199152. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199152>
- Bourne, D.G., Garren, M., Work, T.M., Rosenberg, E., Smith, G.W., Harvell, C.D., 2009. Microbial disease and the coral holobiont. *Trends Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.09.004>
- Boyer, A., 1967. Les pêches maritimes.
- Brandt, G., Wehrmann, A., Wirtz, K.W., 2008. Rapid invasion of *Crassostrea gigas* into the German Wadden Sea dominated by larval supply. *J. Sea Res.* 59, 279–296. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2008.03.004>
- Bright, M., Bulgheresi, S., 2010. A complex journey: Transmission of microbial symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* 8, 218–230. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2262>
- Brock, T.D., 1961. CHLORAMPHENICOL. *Bacteriol. Rev.* 25, 32–48. <https://doi.org/10.1128/br.25.1.32-48.1961>
- Brown, C., Russo, D.J., 1979. Ultraviolet light disinfection of shellfish hatchery sea water: I. Elimination of five pathogenic bacteria. *Aquaculture* 17, 17–23. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(79\)90134-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(79)90134-0)
- Buckling, A., Kassen, R., Bell, G., Rainey, P.B., 2000. Disturbance and diversity in experimental microcosms. *Nat.* 2000 4086815 408, 961–964. <https://doi.org/10.1038/35050080>
- Buestel, D., Ropert, M., Prou, J., Gouilletquer, P., 2009. History, Status, and Future of Oyster Culture in France. *J. Shellfish Res.* 28, 813–820. <https://doi.org/10.2983/035.028.0410>
- Burge, C.A., Closek, C.J., Friedman, C.S., Groner, M.L., Jenkins, C.M., Shore-maggio, A., Welsh, J.E., 2016. Integrative and Comparative Biology The Use of Filter-feeders to Manage Disease in a Changing World 1–15. <https://doi.org/10.1093/icb/icw048>

- Burge, C.A., Eakin, C.M., Friedman, C.S., Froelich, B., Hershberger, P.K., Hofmann, E.E., Petes, L.E., Prager, K.C., Weil, E., Willis, B.L., Ford, S.E., Harvell, C.D., 2014. Climate Change Influences on Marine Infectious Diseases: Implications for Management and Society 249–280. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010213-135029>
- Burge, C.A., Kim, C.J.S., Lyles, J.M., Harvell, C.D., 2013. Special Issue Oceans and Humans Health: The Ecology of Marine Opportunists. Springer. <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0190-7>
- Burgess, S.C., Baskett, M.L., Grosberg, R.K., Morgan, S.G., Strathmann, R.R., 2016. When is dispersal for dispersal? Unifying marine and terrestrial perspectives. *Biol. Rev.* 91, 867–882. <https://doi.org/10.1111/brv.12198>
- Buttó, L.F., Schaubeck, M., Haller, D., 2015. Mechanisms of microbe-host interaction in Crohn's disease: Dysbiosis vs. Pathobiont Selection. *Front. Immunol.* <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00555>
- Byers, J.E., 2021. Marine Parasites and Disease in the Era of Global Climate Change. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 13, 397–420. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-031920-100429>

## C

- Cabioc'h, J., Floc'h, J.-Y., Le Toquin, A., Boudouresque, C.-F., Meinez, A., Verlaque, M., 1992. Guide des algues des mers d'Europe : Manche/Atlantique : Méditerranée. Delachaux et Niestlé. Neuchâtel, Paris, Paris.
- Cai, W.H., Gu, B., Person, S., 1988. Role of glycoprotein B of herpes simplex virus type 1 in viral entry and cell fusion. *J. Virol.* 62, 2596–2604. <https://doi.org/10.1128/jvi.62.8.2596-2604.1988>
- Ceccherelli, G., Oliva, S., Pinna, S., Piazzini, L., Procaccini, G., Marin-Guirao, L., Dattolo, E., Gallia, R., Manna, G. La, Gennaro, P., Costa, M.M., Barrote, I., Silva, J., Bulleri, F., 2018. Seagrass collapse due to synergistic stressors is not anticipated by phenological changes. *Oecologia* 2018 1864 186, 1137–1152. <https://doi.org/10.1007/S00442-018-4075-9>
- Cerenius, L., Soderhall, K., 2004. The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunol. Rev.* 198, 116–126. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.00116.x>
- Charlet, M., Chernysh, S., Philippe, H., Hetru, C., Hoffmann, J.A., Bulet, P., 1996. Innate Immunity: ISOLATION OF SEVERAL CYSTEINE-RICH ANTIMICROBIAL PEPTIDES FROM THE BLOOD OF A MOLLUSC, MYTILUS EDULIS. *J. Biol. Chem.* 271, 21808–21813. <https://doi.org/10.1074/JBC.271.36.21808>
- Charlier, R.H., Morand, P., Finkl, C.W., Thys, A., 2006. Green tides on the Brittany coasts, in: 2006 IEEE US/EU Baltic International Symposium, BALTIC 2006. Institute of Electrical and Electronics Engineers Inc. <https://doi.org/10.1109/BALTIC.2006.7266128>
- Chow, J., Tang, H., Mazmanian, S.K., 2011. Pathobionts of the Gastrointestinal Microbiota and Inflammatory Disease. *Curr. Opin. Immunol.* 23, 473. <https://doi.org/10.1016/J.COI.2011.07.010>
- Civitello, D.J., Cohen, J., Fatima, H., Halstead, N.T., Liriano, J., McMahon, T.A., Ortega, C.N., Sauer, E.L., Sehgal, T., Young, S., Rohr, J.R., 2015. Biodiversity inhibits parasites: Broad evidence for the dilution effect. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 8667–8671. <https://doi.org/10.1073/pnas.1506279112>
- Clegg, T.A., Morrissey, T., Geoghegan, F., Martin, S.W., Lyons, K., Ashe, S., More, S.J., 2014. Risk factors associated with increased mortality of farmed Pacific oysters in Ireland during 2011. *Prev. Vet. Med.* 113, 257–267. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.10.023>

- Clements, F.E., 1936. Nature and Structure of the Climax. *J. Ecol.* 24, 252. <https://doi.org/10.2307/2256278>
- Clerissi, C., de Lorgeril, J., Petton, B., Lucasson, A., Escoubas, J.-M., Gueguen, Y., Dégremont, L., Mitta, G., Toulza, E., 2020. Microbiota Composition and Evenness Predict Survival Rate of Oysters Confronted to Pacific Oyster Mortality Syndrome. *Front. Microbiol.* 11, 311. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00311>
- Closek, C.J., Sunagawa, S., Desalvo, M.K., Piceno, Y.M., Desantis, T.Z., Brodie, E.L., Weber, M.X., Voolstra, C.R., Andersen, G.L., Medina, M., 2014. Coral transcriptome and bacterial community profiles reveal distinct Yellow Band Disease states in *Orbicella faveolata*. *ISME J.* 8, 2411–2422. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.85>
- Cohen, J., Stephens, D., 1978. Food webs and niche space.
- Comps, M., 1988. Epizootie Diseases of Oysters Associated with Viral Infections, American Fisheries Society Special Publication. American Fisheries Society.
- Comps, M., Bonami, J.-R., Vago, C., 1976. Une virose de l'huître portugaise (*Crassostrea angulata* LMK), *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris, Série D.* Elsevier.
- Comps, M., Cochennec, N., 1993. A Herpes-like Virus from the European Oyster *Ostrea edulis* L. *J. Invertebr. Pathol.* 62, 201–203. <https://doi.org/10.1006/jipa.1993.1098>
- Conesa, A., Gotz, S., Garcia-Gomez, J.M., Terol, J., Talon, M., Robles, M., 2005. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics* 21, 3674–3676. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti610>
- Connell, J.H., 1978. Diversity in Tropical Rain Forests and Coral Reefs. *Science (80- )*. 199, 1302–1310. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.199.4335.1302>
- Connell, J.H., 1961. The Influence of Interspecific Competition and Other Factors on the Distribution of the Barnacle *Chthamalus Stellatus*. *Ecology* 42, 710–723. <https://doi.org/10.2307/1933500>
- Corporeau, C., Tamayo, D., Pernet, F., Quéré, C., Madec, S., 2014. Proteomic signatures of the oyster metabolic response to herpesvirus OsHV-1  $\mu$ Var infection. *J. Proteomics* 109. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.06.030>
- Cory, J.S., Deschodt, P.S., 2017. The Biotic Environment, in: *Ecology of Invertebrates Disease*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, pp. 187–212. <https://doi.org/10.1002/9781119256106.ch6>
- Costanza, R., Mageau, M., 1999. What is a healthy ecosystem?, in: *Aquatic Ecology*. Springer, pp. 105–115. <https://doi.org/10.1023/A:1009930313242>
- Couturier, L.I.E., Michel, L.N., Amaro, T., Budge, S.M., da Costa, E., De Troch, M., Di Dato, V., Fink, P., Giraldo, C., Le Grand, F., Loaiza, I., Mathieu-Resuge, M., Nichols, P.D., Parrish, C.C., Sardenne, F., Vagner, M., Pernet, F., Soudant, P., 2020. State of art and best practices for fatty acid analysis in aquatic sciences. *ICES J. Mar. Sci.* 77, 2375–2395. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsaa121>
- Cox, D.R., 1972. Regression Models and Life-Tables. *J. R. Stat. Soc. Ser. B* 34, 187–202. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1972.tb00899.x>
- Crutsinger, G.M., Collins, M.D., Fordyce, J.A., Gompert, Z., Nice, C.C., Sanders, N.J., 2006. Plant genotypic diversity predicts community structure and governs an ecosystem process. *Science (80- )*. 313, 966–968. [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1128326/SUPPL\\_FILE/CRUTSINGER.SOM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1128326/SUPPL_FILE/CRUTSINGER.SOM.PDF)

## D

- Dai, W., Sheng, Z., Chen, J., Xiong, J., 2020. Shrimp disease progression increases the gut bacterial network complexity and abundances of keystone taxa. *Aquaculture* 517, 734802. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2019.734802>
- Dalsgaard, J., St. John, M., Kattner, G., Müller-Navarra, D., Hagen, W., 2003. Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Adv. Mar. Biol.* [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(03\)46005-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(03)46005-7)
- Darwin, C., 1859. *On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life.* London.
- Davis-Poynter, N., Bell, S., Minson, T., Browne, H., 1994. Analysis of the contributions of herpes simplex virus type 1 membrane proteins to the induction of cell-cell fusion. *J. Virol.* 68, 7586–7590. <https://doi.org/10.1128/jvi.68.11.7586-7590.1994>
- Davison, A.J., 2002. Evolution of the herpesviruses, in: *Veterinary Microbiology.* Elsevier, pp. 69–88. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00492-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00492-8)
- Davison, A.J., Trus, B.L., Cheng, N., Steven, A., Watson, M.S., Cunningham, C., Le Deuff, R.M., Renault, T., 2005. A novel class of herpesvirus with bivalve hosts. *J. Gen. Virol.* 86, 41–53. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80382-0>
- De-la-Re-Vega, E., Sánchez-Paz, A., Gallardo-Ybarra, C., Lastra-Encinas, M.A., Castro-Longoria, R., Grijalva-Chon, J.M., López-Torres, M.A., Maldonado-Arce, A.D., 2017. The Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) Hsp70 modulates the Ostreid herpes virus 1 infectivity. *Fish Shellfish Immunol.* 71, 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.09.079>
- de Kantzow, M., Hick, P., Becker, J., Whittington, R., 2016. Effect of water temperature on mortality of Pacific oysters *Crassostrea gigas* associated with microvariant ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1  $\mu$ Var). *Aquac. Environ. Interact.* 8, 419–428. <https://doi.org/10.3354/aei00186>
- de Kantzow, M.C., Hick, P.M., Dhand, N.K., Whittington, R.J., 2017. Risk factors for mortality during the first occurrence of Pacific Oyster Mortality Syndrome due to Ostreid herpesvirus – 1 in Tasmania, 2016. *Aquaculture* 468. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.025>
- de Lorgeril, J., Lucasson, A., Petton, B., Toulza, E., Montagnani, C., Clerissi, C., Vidal-Dupiol, J., Chaparro, C., Galinier, R., Escoubas, J.-M., Haffner, P., Dégremont, L., Charrière, G.M., Lafont, M., Delort, A., Vergnes, A., Chiarello, M., Faury, N., Rubio, T., Leroy, M.A., Pérignon, A., Régler, D., Morga, B., Alunno-Bruscia, M., Boudry, P., Le Roux, F., Destoumieux-Garzón, D., Gueguen, Y., Mitta, G., 2018. Immune-suppression by OsHV-1 viral infection causes fatal bacteraemia in Pacific oysters. *Nat. Commun.* 9, 4215. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06659-3>
- De Lorgeril, J., Petton, B., Lucasson, A., Perez, V., Stenger, P.L., Dégremont, L., Montagnani, C., Escoubas, J.M., Haffner, P., Allienne, J.F., Leroy, M., Lagarde, F., Vidal-Dupiol, J., Gueguen, Y., Mitta, G., 2020. Differential basal expression of immune genes confers *Crassostrea gigas* resistance to Pacific oyster mortality syndrome. *BMC Genomics* 21, 63. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6471-x>
- De Vargas, C., Audic, S., Henry, N., Decelle, J., Mahé, F., Logares, R., Lara, E., Berney, C., Le Bescot, N., Probert, I., Carmichael, M., Poulain, J., Romac, S., Colin, S., Aury, J.M., Bittner, L., Chaffron, S., Dunthorn, M., Engelen, S., Flegontova, O., Guidi, L., Horák, A., Jaillon, O., Lima-Mendez, G., Lukeš, J., Malviya, S., Morard, R., Mulot, M., Scalco, E., Siano, R., Vincent, F., Zingone, A., Dimier, C., Picheral, M., Searson, S., Kandels-Lewis, S., Acinas, S.G., Bork, P., Bowler, C., Gorsky, G., Grimsley,

- N., Hingamp, P., Iudicone, D., Not, F., Ogata, H., Pesant, S., Raes, J., Sieracki, M.E., Speich, S., Stemmann, L., Sunagawa, S., Weissenbach, J., Wincker, P., Karsenti, E., Boss, E., Follows, M., Karp-Boss, L., Krzic, U., Reynaud, E.G., Sardet, C., Sullivan, M.B., Velayoudon, D., 2015. Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean. *Science* (80-. ). 348. <https://doi.org/10.1126/science.1261605>
- Defer, D., Desriac, F., Henry, J., Bourgougnon, N., Baudy-Floc'h, M., Brillet, B., Le Chevalier, P., Fleury, Y., 2013. Antimicrobial peptides in oyster hemolymph: The bacterial connection. *Fish Shellfish Immunol.* 34, 1439–1447. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.03.357>
- Delaporte, M., Soudant, P., Lambert, C., Moal, J., Pouvreau, S., Samain, J.F., 2006. Impact of food availability on energy storage and defense related hemocyte parameters of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* during an experimental reproductive cycle. *Aquaculture* 254, 571–582. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.10.006>
- Delisle, L., 2019. Rôle de la température dans l'interaction huître creuse / Ostreid Herpesvirus de type 1 : réponses transcriptomiques et métaboliques To cite this version : HAL Id : tel-02137606 Lizenn DELISLE Rôle de la température dans l'interaction huître creuse -.
- Delisle, L., Pauletto, M., Vidal-Dupiol, J., Petton, B., Bargelloni, L., Montagnani, C., Pernet, F., Corporeau, C., Fleury, E., 2020. High temperature induces transcriptomic changes in *Crassostrea gigas* that hinder progress of ostreid herpesvirus (OsHV-1) and promote survival. *J. Exp. Biol.* 223. <https://doi.org/10.1242/jeb.226233>
- Delisle, L., Petton, B., Burguin, J.F., Morga, B., Corporeau, C., Pernet, F., 2018. Temperature modulate disease susceptibility of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and virulence of the Ostreid herpesvirus type 1. *Fish Shellfish Immunol.* 80, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.05.056>
- Delong, D.C., 1996. Defining Biodiversity, *Wildlife Society Bulletin (1973-2006)* , Winter, 1996, Vol. 24, No. 4 (Winter, 1996), pp. 738-749. Wiley on behalf of the Wildlife Society.
- Deslous-Paoli, J.-M., Héral, M., 1988. Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the bay of Marennes-Oléron. *Aquat. Living Resour.* 1, 239–249. <https://doi.org/10.1051/alr:1988024>
- Destoumieux, D., 1998. Caractérisation et analyse de l'expression des pénaeidines, peptides antimicrobiens isolés chez la crevette pénaéide *Penaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda). Montpellier II.
- Devi, K.P., Suganthy, N., Kesika, P., Pandian, S.K., 2008. Bioprotective properties of seaweeds: In vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity against food borne bacteria in relation to polyphenolic content. *BMC Complement. Altern. Med.* 8, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-8-38>
- Dinamani, P., 1971. Occurrence of the Japanese oyster, *Crassostrea Gigas* (thunberg), in northland, New Zealand. *New Zeal. J. Mar. Freshw. Res.* 5, 352–357. <https://doi.org/10.1080/00288330.1971.9515388>
- Dinno, A., 2017. Dunn.test: Dunn's Test of Multiple Comparisons Using Rank Sums.
- Dittami, S.M., Arboleda, E., Auguet, J.C., Bigalke, A., Briand, E., Cárdenas, P., Cardini, U., Decelle, J., Engelen, A.H., Eveillard, D., Gachon, C.M.M., Griffiths, S.M., Harder, T., Kayal, E., Kazamia, E., Lallier, F.H., Medina, M., Marzinelli, E.M., Morganti, T.M., Pons, L.N., Prado, S., Pintado, J., Saha, M., Selosse, M.A., Skillings, D., Stock, W., Sunagawa, S., Toulza, E., Vorobev, A., Leblanc, C., Not, F., 2021. A community perspective on the concept of marine holobionts: Current status, challenges, and future directions. *PeerJ* 9, e10911. <https://doi.org/10.7717/peerj.10911>

- Dobin, A., Davis, C.A., Schlesinger, F., Drenkow, J., Zaleski, C., Jha, S., Batut, P., Chaisson, M., Gingeras, T.R., 2013. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics* 29, 15–21. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts635>
- Dobson, A., 2004. Population Dynamics of Pathogens with Multiple Host Species. *Am. Nat.* 164, S64–S78. <https://doi.org/10.1086/424681>
- Domeneghetti, S., Varotto, L., Civettini, M., Rosani, U., Stauder, M., Pretto, T., Pezzati, E., Arcangeli, G., Turolla, E., Pallavicini, A., Venier, P., 2014. Mortality occurrence and pathogen detection in *Crassostrea gigas* and *Mytilus galloprovincialis* close-growing in shallow waters (Goro lagoon, Italy). *Fish Shellfish Immunol.* 41, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.023>
- Dominguez, H., Loret, E.P., 2019. *Ulva lactuca*, A Source of Troubles and Potential Riches. *Mar. Drugs* 17, 357. <https://doi.org/10.3390/md17060357>
- Donaldson, G.P., Lee, S.M., Mazmanian, S.K., 2015. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat. Rev. Microbiol.* <https://doi.org/10.1038/nrmicro3552>
- Douglas, A.E., Werren, J.H., 2016. Holes in the Hologenome: Why Host-Microbe Symbioses Are Not Holobionts. *MBio* 7. <https://doi.org/10.1128/MBIO.02099-15>
- Dowling, P.M., 2013. Chloramphenicol, Thiamphenicol, and Florfenicol, in: *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Wiley, pp. 269–277. <https://doi.org/10.1002/9781118675014.ch16>
- Duarte, C.M., Krause-Jensen, D., 2018. Intervention Options to Accelerate Ecosystem Recovery From Coastal Eutrophication. *Front. Mar. Sci.* 5, 470. <https://doi.org/10.3389/FMARS.2018.00470>
- Duffy, M.A., Housley, J.M., Penczykowski, R.M., Cáceres, C.E., Hall, S.R., 2011. Unhealthy herds: indirect effects of predators enhance two drivers of disease spread. *Funct. Ecol.* 25, 945–953. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2435.2011.01872.X>
- Dugeny, E., de Lorgeril, J., Petton, B., Toulza, E., Gueguen, Y., Pernet, F., 2022. Seaweeds influence oyster microbiota and disease susceptibility. *J. Anim. Ecol.* 00, 1–14 <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13662>
- Dugeny, E., Dubreuil, C., Huber, M., Le Roy, V., Quere, C., de Lorgeril, J., Petton, B., Toulza, E., Gueguen, Y., Pernet, F., 2021. Microbiological and physiological data associated to Pacific oysters exposed to seaweeds and challenged with OsHV-1 under laboratory conditions. *SEANOE*. <https://doi.org/10.17882/85142>
- Dundon, W.G., Arzul, I., Omnes, E., Robert, M., Magnabosco, C., Zambon, M., Gennari, L., Toffan, A., Terregino, C., Capua, I., Arcangeli, G., 2011. Detection of Type 1 Ostreid Herpes variant (OsHV-1  $\mu$ var) with no associated mortality in French-origin Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* farmed in Italy. *Aquaculture* 314, 49–52. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.005>
- Dupont, S., Lokmer, A., Corre, E., Auguet, J.-C., Petton, B., Toulza, E., Montagnani, C., Tanguy, G., Pecqueur, D., Salmeron, C., Guillou, L., Desnues, C., Scola, B. La, Khalil, J.B., De Lorgeril, J., Mitta, G., Gueguen, Y., Escoubas, J.-M., 2019. Oyster hemolymph is a complex and dynamic ecosystem hosting bacteria, protists and viruses. *Anim. Microbiome* 2, 1–16. <https://doi.org/10.1186/S42523-020-00032-W>
- Dutertre, M., Beninger, P.G., Barillé, L., Papin, M., Haure, J., 2010. Rising water temperatures, reproduction and recruitment of an invasive oyster, *Crassostrea gigas*, on the French Atlantic coast. *Mar. Environ. Res.* 69, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2009.07.002>



## E

- EFSA, Berg, C., Bøtner, A., Browman, H., De Koeijer, A., Depner, K., Domingo, M., Ducrot, C., Edwards, S., Fourichon, C., Koenen, F., More, S., Raj, M., Sihvonen, L., Spooler, H., Arend Stegeman, J., Thulke, H.-H., Vågsholm, I., Velarde, A., Willeberg, P., Garcia, C., Lee, R., Mortensen, S., Pernet, F., Roque, A., Thebault, A., 2015. Oyster mortality. *EFSA J.* 13, 4122. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4122>
- EFSA, Bøtner, A., Broom, D., Doherr, M.G., Domingo, M., Hartung, J., Keeling, L., Koenen, F., More, S., Morton, D., Oltenacu, P., Osterhaus, A., Salati, F., Salman, M., Sanaa, M., Sharp, J.M., Stegeman, J.A., Szücs, E., Thulke, H.-H., Vannier, P., Webster and, J., Wierup, M., Broom, D.M., Brun, E., Cheslett, D., Dixon, P., Houssin, M., Roque, A., 2010. Scientific Opinion on the increased mortality events in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*. *EFSA J.* 8, 1894. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1894>
- Egan, S., Fernandes, N.D., Kumar, V., Gardiner, M., Thomas, T., 2014. Bacterial pathogens, virulence mechanism and host defence in marine macroalgae. *Environ. Microbiol.* 16, 925–938. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12288>
- Egan, S., Fukatsu, T., Francino, M.P., 2020. Opportunities and Challenges to Microbial Symbiosis Research in the Microbiome Era. *Front. Microbiol.* 11, 1150. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.01150>
- Egan, S., Gardiner, M., 2016. Microbial dysbiosis: Rethinking disease in marine ecosystems. *Front. Microbiol.* 7, 991. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00991>
- Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S., Thomas, T., 2013. The seaweed holobiont: understanding seaweed–bacteria interactions. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 462–476. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12011>
- Egan, S., Kumar, V., Nappil, J., Gardiner, M., Nappi, J., Gardiner, M., 2017. Microbial Diversity and Symbiotic Interactions with Macroalgae, in: *Algal and Cyanobacteria Symbioses*. WORLD SCIENTIFIC (EUROPE), pp. 493–546. [https://doi.org/10.1142/9781786340580\\_0016](https://doi.org/10.1142/9781786340580_0016)
- Egan, S., Thomas, T., Kjelleberg, S., 2008. Unlocking the diversity and biotechnological potential of marine surface associated microbial communities. *Curr. Opin. Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.04.001>
- Eisenhauer, N., Bowker, M.A., Grace, J.B., Powell, J.R., 2015. From patterns to causal understanding: Structural equation modeling (SEM) in soil ecology. *Pedobiologia (Jena)*. 58, 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2015.03.002>
- Elliot, S.L., Blanford, S., Thomas, M.B., 2002. Host-pathogen interactions in a varying environment: Temperature, behavioural fever and fitness. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 269, 1599–1607. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2067>
- Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Hernandez-Raquet, G., Combes, S., Pascal, G., 2018. FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution. *Bioinformatics* 34, 1287–1294. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx791>
- Evans, O., Paul-Pont, I., Hick, P., Whittington, R.J., 2014. A simple centrifugation method for improving the detection of Ostreid herpesvirus-1 (OsHV-1) in natural seawater samples with an assessment of the potential for particulate attachment. *J. Virol. Methods* 210, 59–66. <https://doi.org/10.1016/J.JVIROMET.2014.09.023>

## F

- Falkenberg, L.J., Scanes, E., Ducker, J., Ross, P.M., 2021. Biotic habitats as refugia under ocean acidification. *Conserv. Physiol.* 9. <https://doi.org/10.1093/CONPHYS/COAB077>
- Fallet, M., 2019. Etude de la réponse environnementale et transgénérationnelle chez l’huitre creuse *Crassostrea gigas* : focus sur les mécanismes épigénétiques. Université de Perpignan.
- FAO, 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020, The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- Fedak, K.M., Bernal, A., Capshaw, Z.A., Gross, S., 2015. Applying the Bradford Hill criteria in the 21st century: how data integration has changed causal inference in molecular epidemiology. *Emerg. Themes Epidemiol.* 12, 14. <https://doi.org/10.1186/S12982-015-0037-4>
- Fisher, W.S., Newell, R.I.E., 1986. Salinity effects on the activity of granular hemocytes of American oysters, *Crassostrea virginica*. *Biol. Bull.* 170, 122–134. <https://doi.org/10.2307/1541385>
- Fletcher, R.L., 1996. The Occurrence of “Green Tides”— a Review. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 7–43. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-61398-2\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-61398-2_2)
- Fleury, E., Huvet, A., 2012. Microarray Analysis Highlights Immune Response of Pacific Oysters as a Determinant of Resistance to Summer Mortality. *Mar. Biotechnol.* 14, 203–217. <https://doi.org/10.1007/s10126-011-9403-6>
- Floc’H, J.Y., Deslandes, E., Le Gall, Y.L., 1987. Evidence for Vegetative Propagation of the Carrageenophyte *Solieria chordalis* (Solieriaceae, Rhodophyceae) on the Coast of Brittany (France) and in Culture. *Bot. Mar.* 30, 315–322. <https://doi.org/10.1515/botm.1987.30.4.315>
- Fong, P., Paul, V.J., 2011. Coral Reef Algae, in: *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition* (Dubinsky and Stambler). Springer, Dordrecht, pp. 241–272. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-0114-4\\_17](https://doi.org/10.1007/978-94-007-0114-4_17)
- Ford, L., Stratakos, A.C., Theodoridou, K., Dick, J.T.A., Sheldrake, G.N., Linton, M., Corcionivoschi, N., Walsh, P.J., 2020. Polyphenols from Brown Seaweeds as a Potential Antimicrobial Agent in Animal Feeds. *ACS Omega*. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03687>
- Forrester, A., Farrell, H., Wilkinson, G., Kaye, J., Davis-Poynter, N., Minson, T., 1992. Construction and properties of a mutant of herpes simplex virus type 1 with glycoprotein H coding sequences deleted. *J. Virol.* 66, 341–348. <https://doi.org/10.1128/jvi.66.1.341-348.1992>
- Fraser, A.J., 1989. Triacylglycerol Content as a Condition Index for Fish, Bivalve, and Crustacean Larvae. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46, 1868–1873. <https://doi.org/10.1139/f89-235>
- Fuhrmann, M., 2016. Interaction entre l’huitre creuse *Crassostrea gigas* et l’Ostréid herpesvirus OsHV-1 : Influence de la salinité et du pH présentée. Thèse. Université de Bretagne Occidentale.
- Fuhrmann, M., Delisle, L., Petton, B., Corporeau, C., Pernet, F., 2018. Metabolism of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, is influenced by salinity and modulates survival to the Ostreid herpesvirus OsHV-1. *Biol. Open* 7. <https://doi.org/10.1242/bio.028134>
- Fuhrmann, M., Petton, B., Quillien, V., Faury, N., Morga, B., Pernet, F., 2016. Salinity influences disease-induced mortality of the oyster *Crassostrea gigas* and infectivity of the ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1). *Aquac. Environ. Interact.* 8, 543–552. <https://doi.org/10.3354/aei00197>
- Furuhashi, T., Schwarzingler, C., Miksik, I., Smrz, M., Beran, A., 2009. Molluscan shell evolution with review of shell calcification hypothesis. *Comp. Biochem. Physiol. - B Biochem. Mol. Biol.* 154, 351–371. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2009.07.011>

## G

- Gachon, C.M.M., Sime-Ngando, T., Strittmatter, M., Chambouvet, A., Kim, G.H., 2010. Algal diseases: Spotlight on a black box. *Trends Plant Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.08.005>
- Gagnaire, B., Frouin, H., Moreau, K., Thomas-Guyon, H., Renault, T., 2006. Effects of temperature and salinity on haemocyte activities of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Fish Shellfish Immunol.* 20, 536–547. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.07.003>
- Garcia, C., Thébault, A., Dégremont, L., Arzul, I., Miossec, L., Robert, M., Chollet, B., François, C., Joly, J.P., Ferrand, S., Kerdudou, N., Renault, T., 2011. Ostreid herpesvirus 1 detection and relationship with *Crassostrea gigas* spat mortality in France between 1998 and 2006. *Vet. Res.* 42, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-73>
- Garnier, M., Labreuche, Y., Nicolas, J.L., 2008. Molecular and phenotypic characterization of *Vibrio aestuarianus* subsp. *francensis* subsp. nov., a pathogen of the oyster *Crassostrea gigas*. *Syst. Appl. Microbiol.* 31, 358–365. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2008.06.003>
- Gazeau, F., Parker, L.M., Comeau, S., Gattuso, J.P., O'Connor, W.A., Martin, S., Pörtner, H.O., Ross, P.M., 2013. Impacts of ocean acidification on marine shelled molluscs. *Mar. Biol.* 160, 2207–2245. <https://doi.org/10.1007/s00227-013-2219-3>
- Gittenberger, A., Voorbergen-Laarman, M.A., Engelsma, M.Y., 2016. Ostreid herpesvirus OshV-1  $\mu$ Var in Pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg 1793) of the Wadden Sea, a UNESCO world heritage site. *J. Fish Dis.* 39, 105–109. <https://doi.org/10.1111/jfd.12332>
- Goecks, J., Nekrutenko, A., Taylor, J., Afgan, E., Ananda, G., Baker, D., Blankenberg, D., Chakrabarty, R., Coraor, N., Goecks, J., Von Kuster, G., Lazarus, R., Li, K., Taylor, J., Vincent, K., 2010. Galaxy: a comprehensive approach for supporting accessible, reproducible, and transparent computational research in the life sciences. *Genome Biol.* 11, 1–13. <https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-8-r86>
- Gosling, E., 2015. Marine bivalve molluscs.
- Gouletquer, P., Heral, M., 1997. Marine Molluscan Production Trends in France: From Fisheries to Aquaculture, NOAA Tech. Rep. NMFS. NOAA.
- Grabowski, J.H., Brumbaugh, R.D., Conrad, R.F., Keeler, A.G., Opaluch, J.J., Peterson, C.H., Piehler, M.F., Powers, S.P., Smyth, A.R., 2012. Economic Valuation of Ecosystem Services Provided by Oyster Reefs. *Bioscience* 62, 900–909. <https://doi.org/10.1525/bio.2012.62.10.10>
- Graham, L.E., Wilcox, L.W., 1999. *Algae*. Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ.
- Green, T.J., Barnes, A.C., 2010. Bacterial diversity of the digestive gland of Sydney rock oysters, *Saccostrea glomerata* infected with the paramyxean parasite, *Marteilia sydneyi*. *J. Appl. Microbiol.* 109, 613–622. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04687.x>
- Green, T.J., Montagnani, C., 2013. Poly I: C induces a protective antiviral immune response in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) against subsequent challenge with Ostreid herpesvirus (OshV-1  $\mu$ var). *Fish Shellfish Immunol.* 35, 382–388. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.04.051>
- Green, T.J., Raftos, D., Speck, P., Montagnani, C., 2015a. Antiviral immunity in marine molluscs. *J. Gen. Virol.* 96, 2471–2482. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000244>
- Green, T.J., Rolland, J.L., Vergnes, A., Raftos, D., Montagnani, C., 2015b. OshV-1 countermeasures to the Pacific oyster's anti-viral response. *Fish Shellfish Immunol.* <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.09.025>

- Green, T.J., Speck, P., Geng, L., Raftos, D., Beard, M.R., Helbig, K.J., 2015c. Oyster viperin retains direct antiviral activity and its transcription occurs via a signalling pathway involving a heat-stable haemolymph protein. *J. Gen. Virol.* 96, 3587–3597. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000300>
- Gribben, P.E., Wright, J.T., O'Connor, W.A., Doblin, M.A., Eyre, B., Steinberg, P.D., 2009. Reduced performance of native infauna following recruitment to a habitat-forming invasive marine alga. *Oecologia* 158, 733–745. <https://doi.org/10.1007/s00442-008-1181-0>
- Griffiths, B.S., Philippot, L., 2013. Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 112–129. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6976.2012.00343.X>
- Grizel, H., 1983. Impact of *Marteilia refringens* and *Bonamia Ostreae* on the Brittany oyster farming, in: Actes CIEM, C. 1983/Gen : 9 (Ed.), CIEM Conseil International Pour l'Exploration de La Mer.
- Grizel, H., Heral, M., 1991. Introduction into France of the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). *ICES J. Mar. Sci.* 47, 399–403. <https://doi.org/10.1093/icesjms/47.3.399>
- Groner, M.L., Burge, C.A., Cox, R., Rivlin, N.D., Turner, M., Van Alstyne, K.L., Wyllie-Echeverria, S., Bucci, J., Staudigel, P., Friedman, C.S., 2018. Oysters and eelgrass: potential partners in a high pCO<sub>2</sub> ocean. *Ecology* 99, 1802–1814. <https://doi.org/10.1002/ECY.2393>
- Groner, M.L., Maynard, J., Breyta, R., Carnegie, R.B., Dobson, A., Friedman, C.S., Froelich, B., Garren, M., Gulland, F.M.D., Heron, S.F., Noble, R.T., Revie, C.W., Shields, J.D., Vanderstichel, R., Weil, E., Wyllie-Echeverria, S., Harvell, C.D., 2016. Managing marine disease emergencies in an era of rapid change. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0364>
- Gueguen, Y., Bernard, R., Julie, F., Paulina, S., Delphine, D.G., Franck, V., Philippe, B., Evelyne, B., 2009. Oyster hemocytes express a proline-rich peptide displaying synergistic antimicrobial activity with a defensin. *Mol. Immunol.* 46, 516–522. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2008.07.021>
- Gueguen, Y., Cadoret, J.P., Flament, D., Barreau-Roumiguière, C., Girardot, A.L., Garnier, J., Hoareau, A., Bachère, E., Escoubas, J.M., 2003. Immune gene discovery by expressed sequence tags generated from hemocytes of the bacteria-challenged oyster, *Crassostrea gigas*. *Gene* 303, 139–145. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(02\)01149-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(02)01149-6)
- Gueguen, Y., Herpin, A., Aumelas, A., Garnier, J., Fievet, J., Escoubas, J.M., Bulet, P., Gonzalez, M., Lelong, C., Favrel, P., Bachère, E., 2006. Characterization of a defensin from the oyster *Crassostrea gigas*: Recombinant production, folding, solution structure, antimicrobial activities, and gene expression. *J. Biol. Chem.* 281, 313–323. <https://doi.org/10.1074/jbc.M510850200>
- Guerrero, R., Margulis, L., Berlanga, M., 2013. Symbiogenesis: The holobiont as a unit of evolution. *Int. Microbiol.* 16, 133–143. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.188>
- Guo, X., He, Y., Zhang, L., Lelong, C., Jouaux, A., 2015. Immune and stress responses in oysters with insights on adaptation. *Fish Shellfish Immunol.* 46, 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.018>
- Gutiérrez-del-Río, I., Fernández, J., Lombó, F., 2018. Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: terpenoids, polyphenols and thiols. *Int. J. Antimicrob. Agents.* <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.04.024>

## H

- Hajishengallis, G., Lamont, R.J., 2016. Dancing with the Stars: How Choreographed Bacterial Interactions Dictate Nososymbiocity and Give Rise to Keystone Pathogens, Accessory Pathogens, and Pathobionts. *Trends Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.02.010>
- Hall, S.R., Sivars-Becker, L., Becker, C., Duffy, M.A., Tessier, A.J., Cáceres, C.E., 2007. Eating yourself sick: transmission of disease as a function of foraging ecology. *Ecol. Lett.* 10, 207–218. <https://doi.org/10.1111/J.1461-0248.2007.01011.X>
- Hanson, C.A., Fuhrman, J.A., Horner-Devine, M.C., Martiny, J.B.H., 2012. Beyond biogeographic patterns: Processes shaping the microbial landscape. *Nat. Rev. Microbiol.* <https://doi.org/10.1038/nrmicro2795>
- Harder, T., Dobretsov, S., Qian, P., 2004. Waterborne polar macromolecules act as algal antifoulants in the seaweed *Ulva reticulata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 274, 133–141. <https://doi.org/10.3354/meps274133>
- Harrison, S., Kivuti-Bitok, L., Macmillan, A., Priest, P., 2019. EcoHealth and One Health: A theory-focused review in response to calls for convergence. *Environ. Int.* 132, 105058. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2019.105058>
- Harvell, C.D., Kim, K., Burkholder, J.M., Colwell, R.R., Epstein, P.R., Grimes, D.J., Hofmann, E.E., Lipp, E.K., Osterhaus, A.D.M.E., Overstreet, R.M., Porter, J.W., Smith, G.W., Vasta, G.R., 1999. Emerging marine diseases - Climate links and anthropogenic factors. *Science* (80-. ). <https://doi.org/10.1126/science.285.5433.1505>
- Harvell, C.D., Mitchell, C.E., Ward, J.R., Altizer, S., Dobson, A.P., Ostfeld, R.S., Samuel, M.D., 2002. Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science* (80-. ). <https://doi.org/10.1126/science.1063699>
- Harvell, D., Aronson, R., Baron, N., Connell, J., Dobson, A., Ellner, S., Gerber, L., Kim, K., Kuris, A., McCallum, H., Lafferty, K., McKay, B., Porter, J., Pascual, M., Smith, G., Sutherland, K., Ward, J., 2004. The rising tide of ocean diseases: unsolved problems and research priorities, *Frontiers in Ecology and the Environment*. John Wiley & Sons, Ltd. [https://doi.org/10.1890/1540-9295\(2004\)002\[0375:TRTOOD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1540-9295(2004)002[0375:TRTOOD]2.0.CO;2)
- Hautmann, M., 2006. Shell morphology and phylogenetic origin of oysters. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2006.03.006>
- Hayden, H.S., Blomster, J., Maggs, C.A., Silva, P.C., Stanhope, M.J., Waaland, J.R., 2003. Linnaeus was right all along: *Ulva* and *Enteromorpha* are not distinct genera. *Eur. J. Phycol.* 38, 277–294. <https://doi.org/10.1080/1364253031000136321>
- He, Y., Jouaux, A., Ford, S.E., Lelong, C., Sourdain, P., Mathieu, M., Guo, X., 2015. Transcriptome analysis reveals strong and complex antiviral response in a mollusc. *Fish Shellfish Immunol.* 46, 131–144. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.023>
- Heijtz, R.D., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Björkholm, B., Samuelsson, A., Hibberd, M.L., Forssberg, H., Pettersson, S., 2011. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 3047–3052. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010529108>
- Heiskanen, A.S., Bonsdorff, E., Joas, M., 2019. Baltic Sea: A Recovering Future From Decades of Eutrophication. *Coasts Estuaries Futur.* 343–362. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814003-1.00020-4>

- Hellio, C., Bado-Nilles, A., Gagnaire, B., Renault, T., Thomas-Guyon, H., 2007. Demonstration of a true phenoloxidase activity and activation of a ProPO cascade in Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) in vitro. *Fish Shellfish Immunol.* 22, 433–440. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.06.014>
- Heral, M., 1985. Evaluation of the carrying capacity of molluscan shellfish ecosystems, in: International Seminar for Research on Planning and Development Aids to the Shellfish Industry. International Seminar for Research on planning and Development aids to the shellfish industry, International Seminar in La Rochelle (France), March 4-9, 1985.
- Hick, P., Evans, O., Looi, R., English, C., Whittington, R.J., 2016. Stability of Ostreid herpesvirus-1 (OsHV-1) and assessment of disinfection of seawater and oyster tissues using a bioassay. *Aquaculture* 450, 412–421. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.08.025>
- Hily, C., Jean, F., 1997. Macrobenthic biodiversity in intertidal habitats of the iroise biosphere reserve (Brittany, France). *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* 77, 311–323. <https://doi.org/10.1017/s0025315400071691>
- Hine, P., Thorne, T., 1997. Replication of herpes-like viruses in haemocytes of adult flat oysters *Ostrea angasi*: an ultrastructural study. *Dis. Aquat. Organ.* 29, 189–196. <https://doi.org/10.3354/dao029189>
- Hine, P., Wesney, B., 1992. Herpesviruses associated with mortalities among hatchery-reared larval Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Dis. Aquat. Organ.* 135–142.
- Hine, P., Wesney, B., Besant, P., 1998. Replication of a herpes-like virus in larvae of the flat oyster *Tiostrea chilensis* at ambient temperatures. *Dis. Aquat. Organ.* 32, 161–171. <https://doi.org/10.3354/dao032161>
- Ho, S.P., Hsu, T.Y., Chen, M.H., Wang, W.S., 2000. Antibacterial Effect of Chloramphenicol, Thiamphenicol and Florfenicol against Aquatic Animal Bacteria. *J. Vet. Med. Sci.* 62, 479–485. <https://doi.org/10.1292/jvms.62.479>
- Hochberg, M.E., 1991. Non-linear transmission rates and the dynamics of infectious disease. *J. Theor. Biol.* 153, 301–321. [https://doi.org/10.1016/S0022-5193\(05\)80572-7](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(05)80572-7)
- Hollants, J., Leliaert, F., De Clerck, O., Willems, A., 2013. What we can learn from sushi: A review on seaweed-bacterial associations. *FEMS Microbiol. Ecol.* <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01446.x>
- Holling, C.S., 1996. Engineering Resilience versus Ecological Resilience, in: National Academy of Engineering (Ed.), *Engineering within Ecological Constraints*. pp. 31–40.
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A.J., Vandermeer, J., Wardle, D.A., 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecol. Monogr.* 75, 3–35. <https://doi.org/10.1890/04-0922>
- Hosokawa, T., Kikuchi, Y., Shimada, M., Fukatsu, T., 2008. Symbiont acquisition alters behaviour of stinkbug nymphs. *Biol. Lett.* 4, 45–48. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2007.0510>
- Hudson, P.J., Dobson, A.P., Lafferty, K.D., 2006. Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends Ecol. Evol.* <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.04.007>
- Hudson, P.J., Dobson, A.P., Newborn, D., 1992. Do Parasites make Prey Vulnerable to Predation? Red Grouse and Parasites. *J. Anim. Ecol.* 61, 681. <https://doi.org/10.2307/5623>

- Hughes, A.R., Inouye, B.D., Johnson, M.T.J., Underwood, N., Vellend, M., 2008. Ecological consequences of genetic diversity. *Ecol. Lett.* 11, 609–623. <https://doi.org/10.1111/J.1461-0248.2008.01179.X>
- Hughes, A.R., Stachowicz, J.J., 2004. Genetic diversity enhances the resistance of a seagrass ecosystem to disturbance. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 8998–9002. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0402642101>
- Hwang, J.Y., Park, J.J., Yu, H.J., Hur, Y.B., Arzul, I., Couraleau, Y., Park, M.A., 2013. Ostreid herpesvirus 1 infection in farmed Pacific oyster larvae *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Korea. *J. Fish Dis.* 36, 969–972. <https://doi.org/10.1111/jfd.12093>

## I

---

- Idewood, W.G.R., 1903. V. On the structure of the gills of the Lamellibranchia. *Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B, Contain. Pap. a Biol. Character* 195, 147–284. <https://doi.org/10.1098/RSTB.1903.0005>
- Igbinosa, E.O., Okoh, A.I., 2008. Emerging *Vibrio* species: an unending threat to public health in developing countries. *Res. Microbiol.* 159, 495–506. <https://doi.org/10.1016/J.RESMIC.2008.07.001>
- Inoue, N., Ishibashi, R., Ishikawa, T., Atsumi, T., Aoki, H., Komaru, A., 2010. Gene expression patterns and pearl formation in the Japanese pearl oyster (*Pinctada fucata*): A comparison of gene expression patterns between the pearl sac and mantle tissues. *Aquaculture* 308, S68–S74. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.06.036>
- Itoh, N., Xue, Q.G., Li, Y., Cooper, R.K., La Peyre, J.F., 2007. cDNA cloning and tissue expression of plasma lysozyme in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *Fish Shellfish Immunol.* 23, 957–968. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2007.03.006>

## J

---

- Jackson, D.J., McDougall, C., Woodcroft, B., Moase, P., Rose, R.A., Kube, M., Reinhardt, R., Rokhsar, D.S., Montagnani, C., Joubert, C., Piquemal, D., Degnan, B.M., 2010. Parallel Evolution of Nacre Building Gene Sets in Molluscs. *Mol. Biol. Evol.* 27, 591–608. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp278>
- Jenkins, C., Hick, P., Gabor, M., Spiers, Z., Fell, S.A., Gu, X., Read, A., Go, J., Dove, M., O'Connor, W., Kirkland, P.D., Frances, J., 2013. Identification and characterisation of an ostreid herpesvirus-1 microvariant (OsHV-1  $\mu$ -var) in *Crassostrea gigas* (Pacific oysters) in Australia. *Dis. Aquat. Organ.* 105, 109–126. <https://doi.org/10.3354/dao02623>
- Johnson, D.A., Welsh, B.L., 1985. Detrimental effects of *Ulva lactuca* (L.) exudates and low oxygen on estuarine crab larvae. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 86, 73–83. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(85\)90043-7](https://doi.org/10.1016/0022-0981(85)90043-7)
- Jones, C.G., Lawton, J.H., Shachak, M., 1994. Organisms as Ecosystem Engineers, in: *Ecosystem Management*. Springer New York, pp. 130–147. [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4018-1\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4018-1_14)
- Jones, G.P., Millcich, M.J., Emsile, M.J., Lunow, C., 1999. Self-recruitment in a coral fish population. *Nature* 402, 802–804. <https://doi.org/10.1038/45538>

- Jouaux, A., Lafont, M., Blin, J.L., Houssin, M., Mathieu, M., Lelong, C., 2013. Physiological change under OsHV-1 contamination in Pacific oyster *Crassostrea gigas* through massive mortality events on fields. *BMC Genomics* 14, 590. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-590>
- Jouzier, E., 1998. L'Huitre: aliment et médicament?, *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*.

## K

- Karl August Möbius, 1877. *Die Austern und die Austernwirtschaft*. Berlin.
- Keeling, S., Brosnahan, C., Williams, R., Gias, E., Hannah, M., Bueno, R., McDonald, W., Johnston, C., 2014. New Zealand juvenile oyster mortality associated with ostreid herpesvirus 1—an opportunistic longitudinal study. *Dis. Aquat. Organ.* 109, 231–239. <https://doi.org/10.3354/dao02735>
- Keesing, F., Belden, L.K., Daszak, P., Dobson, A., Harvell, C.D., Holt, R.D., Hudson, P., Jolles, A., Jones, K.E., Mitchell, C.E., Myers, S.S., Bogich, T., Ostfeld, R.S., 2010. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases, *Nature*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nature09575>
- Keesing, F., Holt, R.D., Ostfeld, R.S., 2006. Effects of species diversity on disease risk. *Ecol. Lett.* <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00885.x>
- Kelly, C., 1961. Disinfection of sea water by ultraviolet radiation. *Am. J. Public Health* 51, 1670–1680.
- Kelvin Lee, K.W., Hoong Yam, J.K., Mukherjee, M., Periasamy, S., Steinberg, P.D., Kjelleberg, S., Rice, S.A., 2016. Interspecific diversity reduces and functionally substitutes for intraspecific variation in biofilm communities. *ISME J.* 10, 846–857. <https://doi.org/10.1038/ISMEJ.2015.159>
- King, G.M., Judd, C., Kuske, C.R., Smith, C., 2012. Analysis of Stomach and Gut Microbiomes of the Eastern Oyster (*Crassostrea virginica*) from Coastal Louisiana, USA. *PLoS One* 7, e51475. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051475>
- King, L.J., 2013. Combating the Triple Threat: The Need for a One Health Approach. *Microbiol. Spectr.* 1. <https://doi.org/10.1128/MICROBIOLSPEC.OH-0012-2012>
- King, W.L., Jenkins, C., Go, J., Siboni, N., Seymour, J.R., Labbate, M., 2019a. Characterisation of the Pacific Oyster Microbiome During a Summer Mortality Event. *Microb. Ecol.* 77, 502–512. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1226-9>
- King, W.L., Jenkins, C., Seymour, J.R., Labbate, M., 2019b. Oyster disease in a changing environment: Decrypting the link between pathogen, microbiome and environment. *Mar. Environ. Res.* 143, 124–140. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.11.007>
- King, W.L., Siboni, N., Williams, N.L.R., Kahlke, T., Nguyen, K.V., Jenkins, C., Dove, M., O'Connor, W., Seymour, J.R., Labbate, M., King, W.L., Kahlke, T., Williams, N.L.R., Seymour, J.R., Dove, M., Siboni, N., Nguyen, K.V., O'Connor, W., Labbate, M., 2019c. Variability in the composition of pacific oyster microbiomes across oyster families exhibiting different levels of susceptibility to OsHV-1  $\mu$ var disease. *Front. Microbiol.* 10, 473. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00473>
- Kinlan, B.P., Gaines, S.D., 2003. Propagule dispersal in marine and terrestrial environments: A community perspective. *Ecology* 84, 2007–2020. <https://doi.org/10.1890/01-0622>
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., Glöckner, F.O., 2013. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res.* 41, e1–e1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>



- Knowlton, N., Rohwer, F., 2003. Multispecies Microbial Mutualisms on Coral Reefs: The Host as a Habitat, in: *American Naturalist*. The University of Chicago Press .  
<https://doi.org/10.1086/378684>
- Koch, H., Schmid-Hempel, P., 2011. Socially transmitted gut microbiota protect bumble bees against an intestinal parasite. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 19288–19292.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1110474108>
- Koch, R., 1884. Die Ätiologie der Tuberkulose. *Mitth. aus dem Kais. Gesundheitsamte* 428–445.
- Kochmann, J., Crowe, T.P., 2014. Effects of native macroalgae and predators on survival, condition and growth of non-indigenous Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 451, 122–129.  
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2013.11.007>
- Kroeker, K.J., Kordas, R.L., Crim, R., Hendriks, I.E., Ramajo, L., Singh, G.S., Duarte, C.M., Gattuso, J., 2013. Impacts of ocean acidification on marine organisms: quantifying sensitivities and interaction with warming. *Glob. Chang. Biol.* 19, 1884–1896. <https://doi.org/10.1111/gcb.12179>
- Kumazawa, N.H., Morimoto, N., 1992. Chemotactic Activity of Hemocytes Derived from a Brackish-Water Clam, *Corbicula japonica*, to *Vibrio Parahaemolyticus* and *Escherichia coli* Strains. *J. Vet. Med. Sci.* 54, 851–855. <https://doi.org/10.1292/jvms.54.851>

## L

---

- Lachnit, T., Meske, D., Wahl, M., Harder, T., Schmitz, R., 2011. Epibacterial community patterns on marine macroalgae are host-specific but temporally variable. *Environ. Microbiol.* 13, 655–665.  
<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02371.x>
- Lafferty, K.D., Harvell, C.D., Conrad, J.M., Friedman, C.S., Kent, M.L., Kuris, A.M., Powell, E.N., Rondeau, D., Saksida, S.M., 2015. Infectious Diseases Affect Marine Fisheries and Aquaculture Economics. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 7, 471–496. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010814-015646>
- Lafferty, K.D., Holt, R.D., 2003. How should environmental stress affect the population dynamics of disease? *Ecol. Lett.* 6, 654–664. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00480.x>
- Lafferty, K.D., Porter, J.W., Ford, S.E., 2004. Are Diseases Increasing in the Ocean? *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35, 31–54. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.35.021103.105704>
- Lamarck, J. de, 1809. *Philosophie zoologique, ou Exposition des considérations relatives à l'histoire naturelle des animaux...*
- Lamb, E.G., Kennedy, N., Siciliano, S.D., 2011. Effects of plant species richness and evenness on soil microbial community diversity and function. *Plant Soil* 338, 483–495.  
<https://doi.org/10.1007/s11104-010-0560-6>
- Lamb, J.B., van de Water, J.A.J.M., Bourne, D.G., Altier, C., Hein, M.Y., Fiorenza, E.A., Abu, N., Jompa, J., Harvell, C.D., 2017. Seagrass ecosystems reduce exposure to bacterial pathogens of humans, fishes, and invertebrates. *Science* 355, 731–733. <https://doi.org/10.1126/science.aal1956>
- Le Deuff, R.M., Renault, T., 1999. Purification and partial genome characterization of a herpes-like virus infecting the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Gen. Virol.* 80, 1317–1322.  
<https://doi.org/10.1099/0022-1317-80-5-1317>
- Le Roux, F., Wegner, K.M., Polz, M.F., 2016. Oysters and *Vibrios* as a Model for Disease Dynamics in Wild Animals. *Trends Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.006>

- Lee, C.K., Laughlin, D.C., Bottos, E.M., Caruso, T., Joy, K., Barrett, J.E., Brabyn, L., Nielsen, U.N., Adams, B.J., Wall, D.H., Hopkins, D.W., Pointing, S.B., McDonald, I.R., Cowan, D.A., Banks, J.C., Stichbury, G.A., Jones, I., Zawar-Reza, P., Katurji, M., Hogg, I.D., Sparrow, A.D., Storey, B.C., Allan Green, T.G., Cary, S.C., 2019. Biotic interactions are an unexpected yet critical control on the complexity of an abiotically driven polar ecosystem. *Commun. Biol.* 2, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s42003-018-0274-5>
- Legatzki, A., Rösler, B., von Mutius, E., 2014. Microbiome Diversity and Asthma and Allergy Risk. *Curr. Allergy Asthma Rep.* <https://doi.org/10.1007/s11882-014-0466-0>
- Lejart, M., Hily, C., 2011. Differential response of benthic macrofauna to the formation of novel oyster reefs (*Crassostrea gigas*, Thunberg) on soft and rocky substrate in the intertidal of the Bay of Brest, France. *J. Sea Res.* 65, 84–93. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2010.07.004>
- Lemer, S., González, V.L., Bieler, R., Giribet, G., 2016. Cementing mussels to oysters in the pteriomorphian tree: a phylogenomic approach. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0857>
- Lemire, A., Goudenège, D., Versigny, T., Petton, B., Calteau, A., Labreuche, Y., Le Roux, F., 2015. Populations, not clones, are the unit of vibrio pathogenesis in naturally infected oysters. *ISME J.* 9, 1523–1531. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.233>
- Lerner, H., Berg, C., 2017. A comparison of three holistic approaches to health: One health, ecohealth, and planetary health. *Front. Vet. Sci.* 4, 163. <https://doi.org/10.3389/FVETS.2017.00163/BIBTEX>
- Lescroart, M., 2017. Les huîtres: 60 clés pour comprendre.
- Lesser, M.P., Bythell, J.C., Gates, R.D., Johnstone, R.W., Hoegh-Guldberg, O., 2007. Are infectious diseases really killing corals? Alternative interpretations of the experimental and ecological data. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 346, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.02.015>
- Ligas, M.W., Johnson, D.C., 1988. A herpes simplex virus mutant in which glycoprotein D sequences are replaced by beta-galactosidase sequences binds to but is unable to penetrate into cells. *J. Virol.* 62, 1486–1494. <https://doi.org/10.1128/jvi.62.5.1486-1494.1988>
- Liltved, H., Cripps, S.J., 1999. Removal of particle-associated bacteria by prefiltration and ultraviolet irradiation. *Aquac. Res.* 30, 445–450. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2109.1999.00349.X>
- Lisansky, S.G., 1988. Fungi in biological control systems Edited by M. N. Burge, Manchester University Press, 1988, pp. 269, price £39.50. ISBN 07190 19796. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 48, 97–98. <https://doi.org/10.1002/jctb.280480109>
- Lokmer, A., Goedknecht, M.A., Thielges, D.W., Fiorentino, D., Kuenzel, S., Baines, J.F., Mathias Wegner, K., 2016a. Spatial and temporal dynamics of pacific oyster hemolymph microbiota across multiple scales. *Front. Microbiol.* 7, 1367. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01367>
- Lokmer, A., Mathias Wegner, K., 2015. Hemolymph microbiome of Pacific oysters in response to temperature, temperature stress and infection. *ISME J.* 9, 670–682. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.160>
- Lokmer, A., Wegner, K.M., Kuenzel, S., Baines, J.F., Wegner, K.M., 2016b. The role of tissue-specific microbiota in initial establishment success of Pacific oysters. *Environ. Microbiol.* 18, 970–987. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13163>

- Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J.P., Hector, A., Hooper, D.U., Huston, M.A., Raffaelli, D., Schmid, B., Tilman, D., Wardle, D.A., 2001. Biodiversity and ecosystem functioning: Current knowledge and future challenges. *Science* (80- ). 294, 804–808. <https://doi.org/10.1126/science.1064088>
- Love, M.I., Huber, W., Anders, S., 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 15, 1–21. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Lucasson, A., Luo, X., Mortaza, S., de Lorgeril, J., Toulza, E., Petton, B., Escoubas, J.M., Clerissi, C., Dégremont, L., Gueguen, Y., Destoumieux-Garzón, D., Jacq, A., Mitta, G., 2020. A core of functionally complementary bacteria colonizes oysters in Pacific Oyster Mortality Syndrome. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.11.16.384644>
- Luna-Acosta, A., Breitwieser, M., Renault, T., Thomas-Guyon, H., 2017. Recent findings on phenoloxidases in bivalves. *Mar. Pollut. Bull.* <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.06.031>
- Luna-Acosta, A., Rosenfeld, E., Amari, M., Fruitier-Arnaudin, I., Bustamante, P., Thomas-Guyon, H., 2010. First evidence of laccase activity in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Fish Shellfish Immunol.* 28, 719–726. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.01.008>
- Lynch, S.A., Carlsson, J., Reilly, A.O., Cotter, E., Culloty, S.C., 2012. A previously undescribed ostreid herpes virus 1 (OsHV-1) genotype detected in the pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *ucc.ie* 1526–1532. <https://doi.org/10.1017/S0031182012000881>

## M

---

- MacKenzie, Clyde L., J., 1996. History of oystering in the United States and Canada, featuring the eight greatest oyster estuaries. *Mar. Fish. Rev.* 58, 1–78.
- Magoč, T., Salzberg, S.L., 2011. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics* 27, 2957–2963. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr507>
- Magre, E.J., 2008. *Ulva Lactuca* L. Negatively Affects *Balanus Balanoides* (L.) (Cirripedia Thoracica) in Tidepools. *Crustaceana* 27, 231–234. <https://doi.org/10.1163/156854074x00758>
- Mahé, F., Rognes, T., Quince, C., de Vargas, C., Dunthorn, M., 2014. Swarm: Robust and fast clustering method for amplicon-based studies. *PeerJ* 2014, 1–13. <https://doi.org/10.7717/peerj.593>
- Malagoli, D., Ottaviani, E., 2005. Cytotoxicity as a marker of mussel health status.
- Malmstrom, C.M., McCullough, A.J., Johnson, H.A., Newton, L.A., Borer, E.T., 2005. Invasive annual grasses indirectly increase virus incidence in California native perennial bunchgrasses. *Oecologia* 145, 153–164. <https://doi.org/10.1007/s00442-005-0099-z>
- Mangott, A., Nappi, J., Delli Paoli Carini, A., Goncalves, P., Hua, K., Domingos, J.A., de Nys, R., Thomas, T., 2020. *Ulva lactuca* as a functional ingredient and water bioremediator positively influences the hepatopancreas and water microbiota in the rearing of *Litopenaeus vannamei*. *Algal Res.* 51, 102040. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102040>
- Margulis, L., 1993. *Symbiosis in cell evolution : Microbial communities in the Archean and Proterozoic Eons*. 2nd Ed. New York, NY: WH Freeman and Co.
- Margulis, L., Chapman, M., Guerrero, R., Hall, J., 2006. The last eukaryotic common ancestor (LECA): Acquisition of cytoskeletal motility from aerotolerant spirochetes in the Proterozoic Eon. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 13080–13085. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604985103>

- Margulis, L., Dolan, M.F., Guerrero, R., 2000. The chimeric eukaryote: Origin of the nucleus from the karyomastigont in amitochondriate protists. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* <https://doi.org/10.1073/pnas.97.13.6954>
- Margulis, L., Fester, R., 1991. *Symbiosis as a Source of Evolutionary Innovation: Speciation and Morphogenesis*. Cambridge: MIT Press.
- Marin, F., Luquet, G., 2005. Molluscan biomineralization: The proteinaceous shell constituents of *Pinna nobilis* L., in: *Materials Science and Engineering C*. Elsevier, pp. 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2005.01.003>
- Marin, F., Luquet, G., 2004. Molluscan shell proteins. *Comptes Rendus - Palevol* 3, 469–492. <https://doi.org/10.1016/j.crvp.2004.07.009>
- Markert, A., Wehrmann, A., Kröncke, I., 2010. Recently established *Crassostrea*-reefs versus native *Mytilus*-beds: Differences in ecosystem engineering affects the macrofaunal communities (Wadden Sea of Lower Saxony, southern German Bight). *Biol. Invasions* 12, 15–32. <https://doi.org/10.1007/s10530-009-9425-4>
- Marteil, L., 1976. La conchyliculture française - Biologie de l'huître et de la moule. *Rev. des Trav. l'Institut des Pêches Marit.* 40, 149–346.
- Martenot, C., 2013. Les variants du virus herpétique ostreid herpesvirus-1 (OsHV-1) chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. *Virologie* 17, 81–87. <https://doi.org/10.1684/VIR.2013.0481>
- Martenot, C., Denechère, L., Hubert, P., Metayer, L., Oden, E., Trancart, S., Travaillé, E., Houssin, M., 2015. Virulence of Ostreid herpesvirus 1  $\mu$ Var in sea water at 16°C and 25°C. *Aquaculture* 439, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.012>
- Martenot, C., Gervais, O., Chollet, B., Houssin, M., Renault, T., 2017. Haemocytes collected from experimentally infected Pacific oysters, *Crassostrea gigas*: Detection of ostreid herpesvirus 1 DNA, RNA, and proteins in relation with inhibition of apoptosis. *PLoS One* 12, e0177448. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177448>
- Martenot, C., Oden, E., Travaillé, E., Malas, J.P., Houssin, M., 2011. Detection of different variants of Ostreid Herpesvirus 1 in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* between 2008 and 2010. *Virus Res.* 160, 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.04.012>
- Martenot, C., Segarra, A., Baillon, L., Faury, N., Houssin, M., Renault, T., 2016. In situ localization and tissue distribution of ostreid herpesvirus 1 proteins in infected Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Invertebr. Pathol.* 136. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.04.002>
- Martenot, C., Travaillé, E., Lethuillier, O., Lelong, C., Houssin, M., 2013. Genome exploration of six variants of the Ostreid Herpesvirus 1 and characterization of large deletion in OsHV-1 $\mu$ Var specimens. *Virus Res.* 178, 462–470. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.08.006>
- Martin-Platero, A.M., Cleary, B., Kauffman, K., Preheim, S.P., McGillicuddy, D.J., Alm, E.J., Polz, M.F., 2018. High resolution time series reveals cohesive but short-lived communities in coastal plankton. *Nat. Commun.* 9, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02571-4>
- Martin, M., 2011a. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *Tech. notes* 17, 10–12.
- Martin, M., 2011b. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal* 17. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>

- Marzinelli, E.M., Campbell, A.H., Zozaya Valdes, E., Vergés, A., Nielsen, S., Wernberg, T., de Bettignies, T., Bennett, S., Caporaso, J.G., Thomas, T., Steinberg, P.D., 2015. Continental-scale variation in seaweed host-associated bacterial communities is a function of host condition, not geography. *Environ. Microbiol.* 17, 4078–4088. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12972>
- Matozzo, V., Chinellato, A., Munari, M., Finos, L., Bressan, M., Marin, M.G., 2012. First Evidence of Immunomodulation in Bivalves under Seawater Acidification and Increased Temperature. *PLoS One* 7, e33820. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033820>
- McCallum, H.I., Kuris, A., Harvell, C.D., Lafferty, K.D., Smith, G.W., Porter, J., 2004. Does terrestrial epidemiology apply to marine systems? *Trends Ecol. Evol.* <https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.08.009>
- McMurdie, P.J., Holmes, S., 2013. Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS One* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Melo, C.M.R., Silva, F.C., Gomes, C.H.A.M., Solé-Cava, A.M., Lazoski, C., 2010. *Crassostrea gigas* in natural oyster banks in southern Brazil. *Biol. Invasions* 12, 441–449. <https://doi.org/10.1007/s10530-009-9475-7>
- Mereschkowsky, C., 1905. Über natur und ursprung der chromatophoren im pflanzenreiche. *Biol. Cent.*
- Meyer-Abich, A., 1943. Beiträge zur Theorie der Evolution der Organismen. I. Das typologische Grundgesetz und seine Folgerungen für Phylogenie und Entwicklungsphysiologie. *Acta Biotheor.* 1943 71 7, 1–80. <https://doi.org/10.1007/BF01603792>
- Migdal, C., Serres, M., 2011. Espèces réactives de l’oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences* 27, 405–412. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>
- Miller, P.M., Lamy, T., Page, H.M., Miller, R.J., 2021. Sea urchin microbiomes vary with habitat and resource availability. *Limnol. Oceanogr. Lett.* 10.10189. <https://doi.org/10.1002/lol2.10189>
- Mineur, F., Provan, J., Arnott, G., 2015. Phylogeographical analyses of shellfish viruses: inferring a geographical origin for ostreid herpesviruses OsHV-1 (Malacoherpesviridae). *Mar. Biol.* 162, 181–192. <https://doi.org/10.1007/s00227-014-2566-8>
- Miossec, L., Le Deuff, R.-M., Gouletquer, P., Andersens, H.C., 2009. Alien species alert: *Crassostrea gigas* (Pacific oyster), ICES Cooperative Research Report. ICES, Copenhagen.
- Miro-Blanch, J., Yanes, O., 2019. Epigenetic regulation at the interplay between gut microbiota and host metabolism. *Front. Genet.* <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00638>
- Mitra, A., Flynn, K.J., Burkholder, J.M., Berge, T., Calbet, A., Raven, J.A., Granéli, E., Glibert, P.M., Hansen, P.J., Stoecker, D.K., Thingstad, F., Tillmann, U., Våge, S., Wilken, S., Zubkov, M. V., 2014. The role of mixotrophic protists in the biological carbon pump. *Biogeosciences* 11, 995–1005. <https://doi.org/10.5194/bg-11-995-2014>
- Mitta, G., Vandenbulcke, F., Noel, T., Romestand, B., Beauvillain, J.C., Salzet, M., Roch, P., 2000. Differential distribution and defence involvement of antimicrobial peptides in mussel. *J. Cell Sci.* 113, 2759–2769. <https://doi.org/10.1242/JCS.113.15.2759>
- Mitta, Guillaume, Vandenbulcke, F., Roch, P., 2000. Original involvement of antimicrobial peptides in mussel innate immunity. *FEBS Lett.* 486, 185–190. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)02192-X](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)02192-X)

- Mojica, K.D.A., Brussaard, C.P.D., 2014. Factors affecting virus dynamics and microbial host-virus interactions in marine environments. *FEMS Microbiol. Ecol.* <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12343>
- Molnar, J.L., Gamboa, R.L., Revenga, C., Spalding, M.D., 2008. Assessing the global threat of invasive species to marine biodiversity. *Front. Ecol. Environ.* <https://doi.org/10.1890/070064>
- Montes, J.F., Durfort, M., García-Valero, J., 1995. Cellular defence mechanism of the clam *Tapes semidecussatus* against infection by the protozoan *Perkinsus* sp. *Cell Tissue Res.* 279, 529–538. <https://doi.org/10.1007/BF00318165>
- Moore, J., 1984. Parasites That Change the Behavior of Their Host, *Scientific American* Vol. 250, No. 5. *Scientific American*, a division of Nature America, Inc.
- Moran, N.A., Sloan, D.B., 2015. The Hologenome Concept: Helpful or Hollow? *PLoS Biol.* 13. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.1002311>
- Morand, P., Merceron, M., 2005. Macroalgal population and sustainability. *J. Coast. Res.* 21, 1009–1020. <https://doi.org/10.2112/04-700A.1>
- Moreau, P., Moreau, K., Segarra, A., Tourbiez, D., Travers, M.A., Rubinsztein, D.C., Renault, T., 2015. Autophagy plays an important role in protecting Pacific oysters from OsHV-1 and *Vibrio aestuarianus* infections. *Autophagy* 11. <https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1017188>
- Morga, B., Faury, N., Guesdon, S., Chollet, B., Renault, T., 2017. Haemocytes from *Crassostrea gigas* and OsHV-1: A promising in vitro system to study host/virus interactions. *J. Invertebr. Pathol.* 150, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2017.09.007>
- Mori, A.S., 2016. Resilience in the Studies of Biodiversity–Ecosystem Functioning. *Trends Ecol. Evol.* 31, 87–89. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2015.12.010>
- Morrissey, T., McCleary, S., Collins, E., Henshilwood, K., Cheslett, D., 2015. An investigation of ostreid herpes virus microvariants found in *Crassostrea gigas* oyster producing bays in Ireland. *Aquaculture* 442, 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.026>
- Mortensen, S., Strand, Å., Bodvin, T., Alfjorden, A., Skår, C., Jelmert, A., Aspán, A., Sælemyr, L., Naustvoll, L., Albretsen, J., 2016. Summer mortalities and detection of ostreid herpesvirus microvariant in Pacific oyster *Crassostrea gigas* in Sweden and Norway. *Dis. Aquat. Organ.* 117, 171–176. <https://doi.org/10.3354/dao02944>
- Munro, P.D., Murray, A.G., Fraser, D.I., Peeler, E.J., 2003. An evaluation of the relative risks of infectious salmon anaemia transmission associated with different salmon harvesting methods in Scotland. *Ocean Coast. Manag.* 46, 157–174. [https://doi.org/10.1016/S0964-5691\(02\)00125-4](https://doi.org/10.1016/S0964-5691(02)00125-4)
- Murray, A.G., 2013. Epidemiology of the spread of viral diseases under aquaculture. *Curr. Opin. Virol.* <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.11.002>

N

- Nell, J.A., 2001. The History of Oyster Farming in Australia. *Mar. Fish. Rev.* 63, 14–25.
- Nell, J.A., Perkins, B., 2005. Evaluation of progeny of fourth generation Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850) breeding lines. *Aquac. Res.* 36, 753–757. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01279.x>
- Nelson, T.A., Lee, D.J., Smith, B.C., 2003. Are “green tides” harmful algal blooms? Toxic properties of water-soluble extracts from two bloom-forming macroalgae, *Ulva fenestrata* and *Ulvaria obscura* (ulvophyceae). *J. Phycol.* 39, 874–879. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2003.02157.x>
- Newell, D., N., 1938. Late Paleozoic pelecypods : Pectinacea. *Kansas Geol Surv* 10, 123p.
- Newell, R., Kemp, W., Hagy III, J., Cerco, C., Testa, J., Boynton, W., 2007. Top-down control of phytoplankton by oysters in Chesapeake Bay, USA: Comment on Pomeroy et al. (2006). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 341, 293–298. <https://doi.org/10.3354/meps341293>
- Newell, R.I.E., 2004. Ecosystem influences of natural and cultivated populations of suspension-feeding bivalve molluscs: a review. *J. Shellfish Res.* 23, 51–62.
- Newell, R.I.E., Cornwell, J.C., Owens, M.S., 2002. Influence of simulated bivalve biodeposition and microphytobenthos on sediment nitrogen dynamics: A laboratory study. *Limnol. Oceanogr.* 47, 1367–1379. <https://doi.org/10.4319/lo.2002.47.5.1367>
- Nguyen, L.T., Haney, E.F., Vogel, H.J., 2011. The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. *Trends Biotechnol.* 29, 464–472. <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2011.05.001>
- Nicolas, J., Comps, M., Pathol, N., Cochennec, 1992. Herpes-like virus infecting Pacific oyster larvae. *Bull. Eur. Ass. Fish.*
- Norman, R., Bowers, R.G., Begon, M., Hudson, P.J., 1999. Persistence of tick-borne virus in the presence of multiple host species: Tick reservoirs and parasite mediated competition. *J. Theor. Biol.* 200, 111–118. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1999.0982>
- Normand, J., 2009. Déterminismes génétiques de l’allocation à la reproduction chez les huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) triploïdes Laboratoire d’accueil : Laboratoire de Génétique et Pathologie-IFREMER Découvrez plus de documents accessibles gratuitement dans Archimer.
- Normand, J., Li, R., Quillien, V., Nicolas, J.L., Boudry, P., Pernet, F., Huvet, A., 2014. Contrasted survival under field or controlled conditions displays associations between mRNA levels of candidate genes and response to OsHV-1 infection in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Mar. Genomics* 15, 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2014.02.002>
- Noss, R. F., and A.Y.C., 1994. Saving nature’s legacy: protecting and restoring biodiversity. Island Press, Washington, D.C.
- Noto, A.E., Gouhier, T.C., 2020. The effects of intraspecific and interspecific diversity on food web stability. *Theor. Ecol.* 2020 133 13, 399–407. <https://doi.org/10.1007/S12080-020-00460-Z>
- Nyholm, S. V., McFall-Ngai, M., 2004. The winnowing: establishing the squid– vibrio symbiosis. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004 28 2, 632–642. <https://doi.org/10.1038/nrmicro957>

## O

- O'Driscoll, N.H., Labovitiadi, O., Cushnie, T.P.T., Matthews, K.H., Mercer, D.K., Lamb, A.J., 2013. Production and evaluation of an antimicrobial peptide-containing wafer formulation for topical application. *Curr. Microbiol.* 66, 271–278. <https://doi.org/10.1007/S00284-012-0268-3/FIGURES/4>
- O'Malley, M.A., 2017. From endosymbiosis to holobionts: Evaluating a conceptual legacy. *J. Theor. Biol.* 434, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2017.03.008>
- Oden, E., Martenot, C., Berthaux, M., Travaillé, E., Malas, J.P., Houssin, M., 2011. Quantification of ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) in *Crassostrea gigas* by real-time PCR: Determination of a viral load threshold to prevent summer mortalities. *Aquaculture* 317, 27–31. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.04.001>
- Ogawa, T., Ohki, K., Kamiya, M., 2013. Differences of spatial distribution and seasonal succession among *Ulva* species (Ulvophyceae) across salinity gradients. *Phycologia* 52, 637–651. <https://doi.org/10.2216/13-199.1>
- Oksanen, J., Blanchet, F., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E., Wagner, H., 2020. Vegan: community ecology package. R Packag. Version 2. 4-6.
- Olicard, C., Renault, T., Torhy, C., Benmansour, A., Bourgougnon, N., 2005. Putative antiviral activity in hemolymph from adult Pacific oysters, *Crassostrea gigas*. *Antiviral Res.* 66, 147–152. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.03.003>
- Oliver, T.H., Heard, M.S., Isaac, N.J.B., Roy, D.B., Procter, D., Eigenbrod, F., Freckleton, R., Hector, A., Orme, C.D.L., Petchey, O.L., Proença, V., Raffaelli, D., Suttle, K.B., Mace, G.M., Martín-López, B., Woodcock, B.A., Bullock, J.M., 2015. Biodiversity and Resilience of Ecosystem Functions. *Trends Ecol. Evol.* 30, 673–684. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2015.08.009>
- Orlofske, S.A., Jadin, R.C., Johnson, P.T.J., 2015. It's a predator-eat-parasite world: how characteristics of predator, parasite and environment affect consumption. *Oecologia* 1, 537–547. <https://doi.org/10.1007/s00442-015-3243-4>
- Ostfeld, R., Holt, R., 2004. Are predators good for your health? Evaluating evidence for top-down regulation of zoonotic disease reservoirs - Ostfeld - 2004 - *Frontiers in Ecology and the Environment* - Wiley Online Library. *Front Ecol Env.* 2, 13–20.
- Ostfeld, R.S., Glass, G.E., Keesing, F., 2005. Spatial epidemiology: an emerging (or re-emerging) discipline. *Trends Ecol. Evol.* 20, 328–336. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2005.03.009>
- Ostfeld, R.S., Keesing, F., 2017. Is biodiversity bad for your health? *Ecosphere* 8, e01676. <https://doi.org/10.1002/ecs2.1676>
- Ostfeld, R.S., Keesing, F., 2000. Biodiversity series: The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. *Can. J. Zool.* 78, 2061–2078. <https://doi.org/10.1139/z00-172>
- Overstreet, R.M., Lotz, J.M., 2016. Host–Symbiont Relationships: Understanding the Change from Guest to Pest. Springer, Cham, pp. 27–64. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-28170-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-28170-4_2)



## P

- Packer, C., Holt, R.D., Hudson, P.J., Lafferty, K.D., Dobson, A.P., 2003. Keeping the herds healthy and alert: implications of predator control for infectious disease. *Ecol. Lett.* 6, 797–802. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00500.x>
- Paine, R.T., 1969. The Pisaster-Tegula Interaction: Prey Patches, Predator Food Preference, and Intertidal Community Structure. *Ecology* 50, 950–961. <https://doi.org/10.2307/1936888>
- Paine, R.T., 1966. Food Web Complexity and Species Diversity. *Am. Nat.* 100, 65–75. <https://doi.org/10.1086/282400>
- Paix, B., Carriot, N., Barry-Martinet, R., Greff, S., Misson, B., Briand, J.F., Culioli, G., 2020. A Multi-Omics Analysis Suggests Links Between the Differentiated Surface Metabolome and Epiphytic Microbiota Along the Thallus of a Mediterranean Seaweed Holobiont. *Front. Microbiol.* 11, 494. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00494>
- Paix, B., Othmani, A., Debroas, D., Culioli, G., Briand, J.F., 2019. Temporal covariation of epibacterial community and surface metabolome in the Mediterranean seaweed holobiont *Taonia atomaria*. *Environ. Microbiol.* 21, 3346–3363. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14617>
- Pan, W.H., Sommer, F., Falk-Paulsen, M., Ulas, T., Best, P., Fazio, A., Kachroo, P., Luzius, A., Jentzsch, M., Rehman, A., Müller, F., Lengauer, T., Walter, J., Künzel, S., Baines, J.F., Schreiber, S., Franke, A., Schultze, J.L., Bäckhed, F., Rosenstiel, P., 2018. Exposure to the gut microbiota drives distinct methylome and transcriptome changes in intestinal epithelial cells during postnatal development. *Genome Med.* 10, 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13073-018-0534-5>
- Pasquier, C., Bertagnoli, S., Dunia, D., Izopet, J., 2013. *Virologie humaine et zoonoses: Cours et fiches de synthèse.*
- Pathirana, E., Fuhrmann, M., Whittington, R., Hick, P., 2019. Influence of environment on the pathogenesis of Ostreid herpesvirus-1 (OsHV-1) infections in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) through differential microbiome responses. *Heliyon* 5, e02101. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02101>
- Paul-Pont, I., Dhand, N.K., Whittington, R.J., 2013a. Influence of husbandry practices on OsHV-1 associated mortality of Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 412–413, 202–214. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.038>
- Paul-Pont, I., Dhand, N.N.K., Whittington, R.R.J., 2013b. Spatial distribution of mortality in Pacific oysters *Crassostrea gigas*: reflection on mechanisms of OsHV-1 transmission. *Dis. Aquat. Organ.* 105, 127–138. <https://doi.org/10.3354/dao02615>
- Paul-Pont, I., Evans, O., Dhand, N.K., Rubio, A., Coad, P., Whittington, R.J., 2014. Descriptive epidemiology of mass mortality due to Ostreid herpesvirus-1 (OsHV-1) in commercially farmed Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) in the Hawkesbury River estuary, Australia. *Aquaculture* 422–423, 146–159. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.009>
- Paul, V., 1992. *Ecological Roles of Marine Natural Products*, Exploratio. ed, Ecological Roles of Marine Natural Products. Cornell University Press, Mangilao. <https://doi.org/10.7591/9781501737435>
- Pazos, A.J., Ruíz, C., García-Martín, O., Abad, M., Sánchez, J.L., 1996. Seasonal variations of the lipid content and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* cultured in El Grove, Galicia, N.W. Spain. *Comp. Biochem. Physiol. - B Biochem. Mol. Biol.* 114, 171–179. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(96\)00017-X](https://doi.org/10.1016/0305-0491(96)00017-X)

- Peckol, P., Putnam, A.B., 2017. Differential in L. littorea of *Ulva lactuca* (Chlorophyta) on the herbivorous gastropods, *Littorina littorea* and *L. obtusata* (Mollusca). *J. Phycol.* 53, 361–367. <https://doi.org/10.1111/jpy.12507>
- Peeler, E.J., Allan Reese, R., Cheslett, D.L., Geoghegan, F., Power, A., Thrush, M.A., 2012. Investigation of mortality in Pacific oysters associated with Ostreid herpesvirus-1 $\mu$ Var in the Republic of Ireland in 2009. *Prev. Vet. Med.* 105, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.02.001>
- Pérès, J., Picard, J., 1964. Nouveau manuel de bionomie benthique de la mer Méditerranée. Station Marine d'Endoume.
- Pérès, J., Picard, J., 1958. Recherches sur les peuplements benthiques de la Méditerranée nord-orientale. Ann. l'Institut Océanographique Monaco.
- Pernet, F., Barret, J., Le Gall, P., Corporeau, C., Dégremont, L., Lagarde, F., Pépin, J.F., Keck, N., 2012. Mass mortalities of Pacific oysters *Crassostrea gigas* reflect infectious diseases and vary with farming practices in the Mediterranean Thau lagoon, France. *Aquac. Environ. Interact.* 2, 215–237. <https://doi.org/10.3354/aei00041>
- Pernet, F., Fuhrmann, M., Fleury, E., Petton, B., Mazurié, J., Bouget, J., Daigle, G., Gernez, P., 2018. Determination of risk factors for herpesvirus outbreak in oysters using a broad-scale spatial epidemiology framework. *Sci. Rep.* 8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29238-4>
- Pernet, Fabrice, Lagarde, F., Jeannée, N., Daigle, G., Barret, J., Le Gall, P., Quere, C., D'orbcastel, E.R., 2014. Spatial and Temporal Dynamics of Mass Mortalities in Oysters Is Influenced by Energetic Reserves and Food Quality. *PLoS One* 9, e88469. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088469>
- Pernet, F., Lagarde, F., Le Gall, P., Roque D'Orbcastel, E., Roque D'Orbcastel, E., 2014. Associations between farming practices and disease mortality of Pacific oyster *Crassostrea gigas* in a Mediterranean lagoon. *Aquac. Environ. Interact.* 5, 99–106. <https://doi.org/10.3354/aei00096>
- Pernet, F., Lugué, K., Petton, B., 2021. Competition for food reduces disease susceptibility in a marine invertebrate. *Ecosphere* 12, e03435. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3435>
- Pernet, F., Lupo, C., Bacher, C., Whittington, R.J., 2016a. Infectious diseases in oyster aquaculture require a new integrated approach. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 371. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0213>
- Pernet, F., Lupo, C., Bacher, C., Whittington, R.J., 2016b. Infectious diseases in oyster aquaculture require a new integrated approach. *Philos. Trans. R. Soc. London B Biol. Sci.* 371.
- Pernet, F., Tamayo, D., Fuhrmann, M., Petton, B., 2019. Deciphering the effect of food availability, growth and host condition on disease susceptibility in a marine invertebrate. *J. Exp. Biol.* 222. <https://doi.org/10.1242/jeb.210534>
- Pernet, F., Tamayo, D., Petton, B., 2015a. Influence of low temperatures on the survival of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) infected with ostreid herpes virus type 1. *Aquaculture* 445, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.04.010>
- Pernet, F., Tamayo, D., Petton, B., 2015b. Influence of low temperatures on the survival of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) infected with ostreid herpes virus type 1. *Aquaculture* 445, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.04.010>
- Petton, Bruno, Boudry, P., Alunno-bruscia, M., Pernet, F., 2015. Factors influencing disease-induced mortality of Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Aquac. Environ. Interact.* 6. <https://doi.org/10.3354/aei00125>

- Petton, B., Bruto, M., James, A., Labreuche, Y., Alumno-Bruscia, M., Le Roux, F., 2015. *Crassostrea gigas* mortality in France : the usual suspect , a herpes virus , may not be the killer in this polymicrobial opportunistic disease 6, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00686>
- Petton, B., Pernet, F., Robert, R., Boudry, P., 2013. Temperature influence on pathogen transmission and subsequent mortalities in juvenile Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Aquac. Environ. Interact.* 3, 257–273. <https://doi.org/10.3354/aei00070>
- Philippot, L., Griffiths, B.S., Langenheder, S., 2021. Microbial Community Resilience across Ecosystems and Multiple Disturbances. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 85. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00026-20>
- Pierce, M.L., Ward, J.E., Holohan, B.A., Zhao, X., Hicks, R.E., 2016. The influence of site and season on the gut and pallial fluid microbial communities of the eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Bivalvia, Ostreidae): community-level physiological profiling and genetic structure. Springer. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2405-z>
- Pita, L., Rix, L., Slaby, B.M., Franke, A., Hentschel, U., 2018. The sponge holobiont in a changing ocean: from microbes to ecosystems. *Microbiome*. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0428-1>
- Plazzi, F., Passamonti, M., 2010. Towards a molecular phylogeny of Mollusks: Bivalves' early evolution as revealed by mitochondrial genes. *Mol. Phylogenet. Evol.* 57, 641–657. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.08.032>
- Power, A.G., 1987. Plant Community Diversity, Herbivore Movement, and an Insect-Transmitted Disease of Maize. *Ecology* 68, 1658–1669. <https://doi.org/10.2307/1939858>

## Q

---

- Quillien, N., Nordström, M., Gauthier, O., Bonsdorff, E., Paulet, Y., Grall, J., 2015. Effects of macroalgal accumulations on the variability in zoobenthos of high-energy macrotidal sandy beaches. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 522, 97–114. <https://doi.org/10.3354/meps11151>
- Quillien, N., Nolwenn, Nordström, M.C., Guyonnet, B., Maguer, M., Le Garrec, V., Bonsdorff, E., Grall, J., 2015. Large-scale effects of green tides on macrotidal sandy beaches: Habitat-specific responses of zoobenthos. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 164, 379–391. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.07.042>
- Quinn, E.A., Malkin, S.H., Rowley, A.F., Coates, C.J., 2020. Laccase and catecholoxidase activities contribute to innate immunity in slipper limpets, *Crepidula fornicata*. *Dev. Comp. Immunol.* 110, 103724. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2020.103724>

## R

---

- R Core Team, R., 2020. R: A language and environment for statistical computing.
- Rajauria, G., Jaiswal, A.K., Abu-Gannam, N., Gupta, S., 2013. Antimicrobial, antioxidant and free radical-scavenging capacity of brown seaweed *Himantalia elongata* from western coast of Ireland. *J. Food Biochem.* 37, 322–335. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2012.00663.x>
- Randall, R.E., Goodbourn, S., 2008. Interferons and viruses: An interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures. *J. Gen. Virol.* <https://doi.org/10.1099/vir.0.83391-0>

- Raven, J.A., Ball, L.A., Beardall, J., Giordano, M., Maberly, S.C., 2005. Algae lacking carbon-concentrating mechanisms, in: *Canadian Journal of Botany*. NRC Research Press Ottawa, Canada, pp. 879–890. <https://doi.org/10.1139/b05-074>
- Reise, K., Gollasch, S., Wolff, W., 1998. *Introduced marine species of the North Sea coasts*, Springer.
- Renault, T., Bouquet, A.L., Maurice, J.T., Lupo, C., Blachier, P., 2014. Ostreid herpesvirus 1 infection among Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) spat: Relevance of water temperature to virus replication and circulation prior to the onset of mortality. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 5419–5426. <https://doi.org/10.1128/AEM.00484-14>
- Renault, T., Faury, N., Barbosa-Solomieu, V., Moreau, K., 2011. Suppression subtractive hybridisation (SSH) and real time PCR reveal differential gene expression in the Pacific cupped oyster, *Crassostrea gigas*, challenged with Ostreid herpesvirus 1. *Dev. Comp. Immunol.* 35, 725–735. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.02.004>
- Renault, T., Le Deuff, R., Chollet, B., Cochenec, N., Gerard, A., 2000. Concomitant herpes-like virus infections in hatchery-reared larvae and nursery-cultured spat *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*. *Dis. Aquat. Organ.* 42, 173–183. <https://doi.org/10.3354/dao042173>
- Renault, T., Lipart, C., Arzul, I., 2001. A herpes-like virus infects a non-ostreid bivalve species: virus replication in *Ruditapes philippinarum* larvae. *Dis. Aquat. Organ.* 45, 1–7. <https://doi.org/10.3354/dao045001>
- Renault, T., Moreau, P., Faury, N., Pepin, J.-F., Segarra, A., Webb, S., 2012. Analysis of Clinical Ostreid Herpesvirus 1 (Malacoherpesviridae) Specimens by Sequencing Amplified Fragments from Three Virus Genome Areas. *J. Virol.* 86, 5942–5947. <https://doi.org/10.1128/jvi.06534-11>
- Renault, T., Novoa, B., 2004. Viruses infecting bivalve molluscs, *Aquatic Living Resources*. EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/alr:2004049>
- Retchless, A.C., Lawrence, J.G., 2012. Ecological Adaptation in Bacteria: Speciation Driven by Codon Selection. *Mol. Biol. Evol.* 29, 3669–3683. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSS171>
- Reusch, T.B.H., Ehlers, A., Hämmerli, A., Worm, B., 2005. Ecosystem recovery after climatic extremes enhanced by genotypic diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 2826–2831. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0500008102>
- Robertsen, B., 2006. The interferon system of teleost fish, in: *Fish and Shellfish Immunology*. Academic Press, pp. 172–191. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.01.010>
- Roder, C., Arif, C., Bayer, T., Aranda, M., Daniels, C., Shibl, A., Chavanich, S., Voolstra, C.R., 2014. Bacterial profiling of White Plague Disease in a comparative coral species framework. *ISME J.* 8, 31–39. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.127>
- Rogers, A.B., 2012. Gastric *Helicobacter* spp. in animal models: pathogenesis and modulation by extragastric coinfections. *Methods Mol. Biol.* 921, 175–188. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-005-2\\_21](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-005-2_21)
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., Mahé, F., 2016. VSEARCH: A versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ* 2016, 1–22. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
- Roop, C., Hutchinson, L., Johnson, D.C., 1993. A mutant herpes simplex virus type 1 unable to express glycoprotein L cannot enter cells, and its particles lack glycoprotein H. *J. Virol.* 67, 2285–2297. <https://doi.org/10.1128/jvi.67.4.2285-2297.1993>

- Roque, A., Carrasco, N., Andree, K.B., Lacuesta, B., Elandaloussi, L., Gairin, I., Rodgers, C.J., Furones, M.D., 2012. First report of OsHV-1 microvar in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) cultured in Spain. *Aquaculture* 324–325, 303–306. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.10.018>
- Rosa, R.D., Santini, A., Fievet, J., Bulet, P., Destoumieux-Garzón, D., Bachère, E., 2011. Big Defensins, a Diverse Family of Antimicrobial Peptides That Follows Different Patterns of Expression in Hemocytes of the Oyster *Crassostrea gigas*. *PLoS One* 6, e25594. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0025594>
- Rosani, U., Varotto, L., Domeneghetti, S., Arcangeli, G., Pallavicini, A., Venier, P., 2015. Dual analysis of host and pathogen transcriptomes in ostreid herpesvirus 1-positive *Crassostrea gigas*. *Environ. Microbiol.* 17. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12706>
- Rosani, Umberto, Varotto, L., Gerdol, M., Pallavicini, A., Venier, P., 2015. IL-17 signaling components in bivalves: Comparative sequence analysis and involvement in the immune responses. *Dev. Comp. Immunol.* 52, 255–268. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2015.05.001>
- Rudolf, V.H.W., Rasmussen, N.L., 2013. Ontogenetic functional diversity: Size structure of a keystone predator drives functioning of a complex ecosystem. *Ecology* 94, 1046–1056. <https://doi.org/10.1890/12-0378.1>
- Ruesink, J.L., Lenihan, H.S., Trimble, A.C., Heiman, K.W., Micheli, F., Byers, J.E., Kay, M.C., 2005. Introduction of non-native oysters: Ecosystem effects and restoration implications. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.152638>

## S

---

- Sabine, C.L., Feely, R.A., Gruber, N., Key, R.M., Lee, K., Bullister, J.L., Wanninkhof, R., Wong, C.S., Wallace, D.W.R., Tilbrook, B., Millero, F.J., Peng, T.H., Kozyr, A., Ono, T., Rios, A.F., 2004. The oceanic sink for anthropogenic CO<sub>2</sub>. *Science* (80-. ). 305, 367–371. <https://doi.org/10.1126/science.1097403>
- Salvi, D., Mariottini, P., 2016. Molecular taxonomy in 2D: a novel ITS2 rRNA sequence-structure approach guides the description of the oysters' subfamily Saccostreinae and the genus *Magallana* (Bivalvia: Ostreidae). *Zool. J. Linn. Soc.* 179, 263–276. <https://doi.org/10.1111/zoj.12455>
- Samain, J., McCombie, H., 2008. Summer mortality of Pacific oyster *Crassostrea gigas*: the Morest project.
- Schikorski, D., Faury, N., Pepin, J.F., Saulnier, D., Tourbiez, D., Renault, T., 2011. Experimental ostreid herpesvirus 1 infection of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: Kinetics of virus DNA detection by q-PCR in seawater and in oyster samples. *Virus Res.* 155, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.031>
- Schikorski, David, Renault, T., Saulnier, D., Faury, N., Moreau, P., Pépin, J.F., 2011. Experimental infection of Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat by ostreid herpesvirus 1: Demonstration of oyster spat susceptibility. *Vet. Res.* 42, 1–13. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-27>
- Schmitt, P., Gueguen, Y., Desmarais, E., Bachère, E., De Lorgeril, J., 2010. Molecular diversity of antimicrobial effectors in the oyster *Crassostrea gigas*. *BMC Evol. Biol.* 10, 1–12. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-23/TABLES/3>
- Schmitt, P., Lorgeril, J. de, Gueguen, Y., Destoumieux-Garzón, D., Bachère, E., 2012a. Expression, tissue localization and synergy of antimicrobial peptides and proteins in the immune response of the oyster *Crassostrea gigas*. *Dev. Comp. Immunol.* 37, 363–370. <https://doi.org/10.1016/J.DCI.2012.01.004>

- Schmitt, P., Rosa, R.D., Duperthuy, M., de Lorgeril, J., Bachère, E., Destoumieux-Garzón, D., 2012b. The antimicrobial defense of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. How diversity may compensate for scarcity in the regulation of resident/pathogenic microflora. *Front. Microbiol.* <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00160>
- Schöne, B.R., Gillikin, D.P., 2013. Unraveling environmental histories from skeletal diaries - Advances in sclerochronology. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2012.11.026>
- Segarra, A., 2014. Étude des interactions hôte/virus chez l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, et son virus Ostreid herpesvirus 1. Université de Bretagne Sud.
- Segarra, A., Baillon, L., Faury, N., Tourbiez, D., Renault, T., 2016. Detection and distribution of ostreid herpesvirus 1 in experimentally infected Pacific oyster spat. *J. Invertebr. Pathol.* 133, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.11.013>
- Segarra, A., Mauduit, F., Faury, N., Trancart, S., Dégremont, L., Tourbiez, D., Haffner, P., Barbosa-Solomieu, V., Pépin, J.F., Travers, M.A., Renault, T., 2014. Dual transcriptomics of virus-host interactions: Comparing two Pacific oyster families presenting contrasted susceptibility to ostreid herpesvirus 1. *BMC Genomics* 15. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-580>
- Segarra, A., Pépin, J.F., Arzul, I., Morga, B., Faury, N., Renault, T., 2010. Detection and description of a particular Ostreid herpesvirus 1 genotype associated with massive mortality outbreaks of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in France in 2008. *Virus Res.* 153, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.011>
- Serebryakova, A., Aires, T., Viard, F., Serrão, E.A., Engelen, A.H., 2018. Summer shifts of bacterial communities associated with the invasive brown seaweed *Sargassum muticum* are location and tissue dependent. *PLoS One* 13, e0206734. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206734>
- Shumway, S.E., 1977. Effect of salinity fluctuation on the osmotic pressure and Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> ion concentrations in the hemolymph of bivalve molluscs. *Mar. Biol.* 41, 153–177. <https://doi.org/10.1007/BF00394023>
- Simonet, G., Duchemin, E., 2010. The concept of adaptation : interdisciplinary scope and involvement in climate change. *S.A.P.I.E.N.S [Online]* 3.1.
- Singh, R.P., Reddy, C.R.K., 2014. Seaweed-microbial interactions: Key functions of seaweed-associated bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 88, 213–230. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12297>
- Smaal, A., Stralen, M., Craeymeersch, J., 2005. Does the Introduction of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas* Lead to Species Shifts in the Wadden Sea?, in: *The Comparative Roles of Suspension-Feeders in Ecosystems*. Springer-Verlag, pp. 277–289. [https://doi.org/10.1007/1-4020-3030-4\\_16](https://doi.org/10.1007/1-4020-3030-4_16)
- Smetacek, V., Zingone, A., 2013. Green and golden seaweed tides on the rise. *Nature.* <https://doi.org/10.1038/nature12860>
- Smith, V.H., Tilman, G.D., Nekola, J.C., 1999. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environ. Pollut.* 100, 179–196. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00091-3](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00091-3)
- Smolowitz, R., Leavitt, D., Perkins, F., 1998. Observations of a Protistan Disease Similar to QPX in *Mercenaria mercenaria*(Hard Clams) from the Coast of Massachusetts. *J. Invertebr. Pathol.* 71, 9–25. <https://doi.org/10.1006/jipa.1997.4706>

- Soudant, P., E. Chu, F.L., Volety, A., 2013. Host-parasite interactions: Marine bivalve molluscs and protozoan parasites, Perkinsus species. *J. Invertebr. Pathol.* 114, 196–216. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2013.06.001>
- Soudant, P., Van Ryckeghem, K., Marty, Y., Moal, J., Samain, J.F., Sorgeloos, P., 1999. Comparison of the lipid class and fatty acid composition between a reproductive cycle in nature and a standard hatchery conditioning of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Comp. Biochem. Physiol. - B Biochem. Mol. Biol.* 123, 209–222. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(99\)00063-2](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(99)00063-2)
- Sousa, W.P., 1979. Disturbance in Marine Intertidal Boulder Fields: The Nonequilibrium Maintenance of Species Diversity. *Ecology* 60, 1225–1239. <https://doi.org/10.2307/1936969>
- Stasia, M.-J., 2007. J. La granulomatose septique chronique X+. Un fabuleux modèle d'étude de l'activation du complexe NADPH oxydase. *médecine/sciences* 23, 526–532. <https://doi.org/10.1051/medsci/2007235526>
- Stengel, D.B., Connan, S., Popper, Z.A., 2011. Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnol. Adv.* 29, 483–501. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2011.05.016>
- Stenzel, H.B., 1963. Aragonite and calcite as constituents of adult oyster shells. *Science (80- )*. 142, 232–233. <https://doi.org/10.1126/science.142.3589.232>
- Stenzel, H.B., 1962. Aragonite in the resilium of oysters. *Science (80- )*. 136, 1121–1122. <https://doi.org/10.1126/science.136.3522.1121-a>
- Stiger-Pouvreau, V., Zubia, M., 2020. Macroalgal diversity for sustainable biotechnological development in French tropical overseas territories. *Bot. Mar.* 63, 17–41. <https://doi.org/10.1515/BOT-2019-0032/PDF>
- Storey, K.B., 1996. Oxidative Stress: Animal Adaptations in Nature Article in, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*.
- Strauss, A.T., Civitello, D.J., Cáceres, C.E., Hall, S.R., 2015. Success, failure and ambiguity of the dilution effect among competitors. *Ecol. Lett.* 18, 916–926. <https://doi.org/10.1111/ele.12468>
- Supek, F., Bošnjak, M., Škunca, N., Šmuc, T., 2011. REVIGO Summarizes and Visualizes Long Lists of Gene Ontology Terms. *PLoS One* 6, e21800. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021800>
- Suquet, M., Kermoyan, G. De, Araya, R.G., Queau, I., Lebrun, L., Souchu, P. Le, Mingant, C., 2009. Anesthesia in Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquat. Living Resour.* 22, 29–34. <https://doi.org/10.1051/alr/2009006>
- Suttle, C.A., Chen, F., 1992. Mechanisms and Rates of Decay of Marine Viruses in Seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* 58.
- Sweet, M., Burian, A., Fifer, J., Bulling, M., Elliott, D., Raymundo, L., 2019. Compositional homogeneity in the pathobiome of a new, slow-spreading coral disease. *Microbiome* 7, 1–14. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0759-6>
- Sweet, M.J., Bulling, M.T., 2017. On the Importance of the Microbiome and Pathobiome in Coral Health and Disease. *Front. Mar. Sci.* 4, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00009>

## T

- Tamayo, D., Corporeau, C., Petton, B., Quere, C., Pernet, F., 2014. Physiological changes in Pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed to the herpesvirus OsHV-1 $\mu$ Var. *Aquaculture* 432. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.023>
- Tamburri, M.N., Zimmer, R.K., Zimmer, C.A., 2007. Mechanisms reconciling gregarious larval settlement with adult cannibalism. *Ecol. Monogr.* 77, 255–268. <https://doi.org/10.1890/06-1074>
- Tansley, A.G., 1935. The Use and Abuse of Vegetational Concepts and Terms. *Ecology* 16, 284–307. <https://doi.org/10.2307/1930070>
- Taylor, J.D., Kennedy, W.J., 1969. The influence of the periostracum on the shell structure of bivalve molluscs. *Calcif. Tissue Res.* 3, 274–283. <https://doi.org/10.1007/BF02058669>
- Thaler, J.S., Fidantsef, A.L., Duffey, S.S., Bostock, R.M., 1999. Trade-offs in plant defense against pathogens and herbivores: A field demonstration of chemical elicitors of induced resistance. *J. Chem. Ecol.* 25, 1597–1609. <https://doi.org/10.1023/A:1020840900595>
- Thanigaivel, S., Chandrasekaran, N., Mukherjee, A., John Thomas, 2016. Seaweeds as an alternative therapeutic source for aquatic disease management. *Aquaculture*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.001>
- Thébault, J., Chauvaud, L., 2013. Li/Ca enrichments in great scallop shells (*Pecten maximus*) and their relationship with phytoplankton blooms. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 373, 108–122. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2011.12.014>
- Theis, K.R., Dheilly, N.M., Klassen, J.L., Brucker, R.M., Baines, J.F., Bosch, T.C.G., Cryan, J.F., Gilbert, S.F., Goodnight, C.J., Lloyd, E.A., Sapp, J., Vandenkoornhuys, P., Zilber-Rosenberg, I., Rosenberg, E., Bordenstein, S.R., 2016. Getting the Hologenome Concept Right: an Eco-Evolutionary Framework for Hosts and Their Microbiomes. *mSystems* 1. <https://doi.org/10.1128/MSYSTEMS.00028-16>
- Thomas, Y., Pouvreau, S., Alunno-Bruscia, M., Barillé, L., Gohin, F., Bryère, P., Gernez, P., 2016. Global change and climate-driven invasion of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) along European coasts: a bioenergetics modelling approach. *J. Biogeogr.* 43, 568–579. <https://doi.org/10.1111/jbi.12665>
- Thompson, L.R., Sanders, J.G., McDonald, D., Amir, A., Ladau, J., Locey, K.J., Prill, R.J., Tripathi, A., Gibbons, S.M., Ackermann, G., Navas-Molina, J.A., Janssen, S., Kopylova, E., Vázquez-Baeza, Y., González, A., Morton, J.T., Mirarab, S., Xu, Z.Z., Jiang, L., Haroon, M.F., Kanbar, J., Zhu, Q., Song, S.J., Kosciolk, T., Bokulich, N.A., Lefler, J., Brislawn, C.J., Humphrey, G., Owens, S.M., Hampton-Marcell, J., Berg-Lyons, D., McKenzie, V., Fierer, N., Fuhrman, J.A., Clauset, A., Stevens, R.L., Shade, A., Pollard, K.S., Goodwin, K.D., Jansson, J.K., Gilbert, J.A., Knight, R., Agosto Rivera, J.L., Al-Moosawi, L., Alverdy, J., Amato, K.R., Andras, J., Angenent, L.T., Antonopoulos, D.A., Apprill, A., Armitage, D., Ballantine, K., Bárta, J., Baum, J.K., Berry, A., Bhatnagar, A., Bhatnagar, M., Biddle, J.F., Bittner, L., Boldgiv, B., Bottos, E., Boyer, D.M., Braun, J., Brazelton, W., Brearley, F.Q., Campbell, A.H., Caporaso, J.G., Cardona, C., Carroll, J.L., Cary, S.C., Casper, B.B., Charles, T.C., Chu, H., Claar, D.C., Clark, R.G., Clayton, J.B., Clemente, J.C., Cochran, A., Coleman, M.L., Collins, G., Colwell, R.R., Contreras, M., Crary, B.B., Creer, S., Cristol, D.A., Crump, B.C., Cui, D., Daly, S.E., Davalos, L., Dawson, R.D., Defazio, J., Delsuc, F., Dionisi, H.M., Dominguez-Bello, M.G., Dowell, R., Dubinsky, E.A., Dunn, P.O., Ercolini, D., Espinoza, R.E., Ezenwa, V., Fenner, N., Findlay, H.S., Fleming, I.D., Fogliano, V., Forsman, A., Freeman, C., Friedman, E.S., Galindo, G., Garcia, L., Garcia-Amado, M.A., Garshelis, D., Gasser, R.B., Gerds, G., Gibson, M.K., Gifford, I., Gill, R.T., Giray, T., Gittel, A., Golyshin, P., Gong, D., Grossart, H.P., Guyton, K., Haig, S.J., Hale, V., Hall, R.S., Hallam, S.J., Handley, K.M., Hasan, N.A., Haydon, S.R., Hickman, J.E., Hidalgo, G., Hofmockel, K.S., Hooker,



- J., Hulth, S., Hultman, J., Hyde, E., Ibáñez-Álamo, J.D., Jastrow, J.D., Jex, A.R., Johnson, L.S., Johnston, E.R., Joseph, S., Jurburg, S.D., Jurelevicius, D., Karlsson, A., Karlsson, R., Kauppinen, S., Kellogg, C.T.E., Kennedy, S.J., Kerkhof, L.J., King, G.M., Kling, G.W., Koehler, A. V., Krezalek, M., Kueneman, J., Lamendella, R., Landon, E.M., Lanede Graaf, K., LaRoche, J., Larsen, P., Laverock, B., Lax, S., Lentino, M., Levin, I.I., Liancourt, P., Liang, W., Linz, A.M., Lipson, D.A., Liu, Y., Lladser, M.E., Lozada, M., Spirito, C.M., MacCormack, W.P., MacRae-Crerar, A., Magris, M., Martín-Platero, A.M., Martín-Vivaldi, M., Martínez, L.M., Martínez-Bueno, M., Marzinelli, E.M., Mason, O.U., Mayer, G.D., McDevitt-Irwin, J.M., McDonald, J.E., McGuire, K.L., McMahan, K.D., McMinds, R., Medina, M., Mendelson, J.R., Metcalf, J.L., Meyer, F., Michelangeli, F., Miller, K., Mills, D.A., Minich, J., Mocali, S., Moitinho-Silva, L., Moore, A., Morgan-Kiss, R.M., Munroe, P., Myrold, D., Neufeld, J.D., Ni, Y., Nicol, G.W., Nielsen, S., Nissimov, J.I., Niu, K., Nolan, M.J., Noyce, K., O'Brien, S.L., Okamoto, N., Orlando, L., Castellano, Y.O., Osuolale, O., Oswald, W., Parnell, J., Peralta-Sánchez, J.M., Petraitis, P., Pfister, C., Pilon-Smits, E., Piombino, P., Pointing, S.B., Pollock, F.J., Potter, C., Prithiviraj, B., Quince, C., Rani, A., Ranjan, R., Rao, S., Rees, A.P., Richardson, M., Riebesell, U., Robinson, C., Rockne, K.J., Rodriguez, S.M., Rohwer, F., Roundstone, W., Safran, R.J., Sangwan, N., Sanz, V., Schrenk, M., Schrenzel, M.D., Scott, N.M., Seger, R.L., Seguinorlando, A., Seldin, L., Seyler, L.M., Shakhsher, B., Sheets, G.M., Shen, C., Shi, Y., Shin, H., Shogan, B.D., Shutler, D., Siegel, J., Simmons, S., Sjöling, S., Smith, D.P., Soler, J.J., Sperling, M., Steinberg, P.D., Stephens, B., Stevens, M.A., Taghavi, S., Tai, V., Tait, K., Tan, C.L., Taş, N., Taylor, D.L., Thomas, T., Timling, I., Turner, B.L., Urich, T., Ursell, L.K., Van Der Lelie, D., Van Treuren, W., Van Zwieten, L., Vargas-Robles, D., Thurber, R.V., Vitaglione, P., Walker, D.A., Walters, W.A., Wang, S., Wang, T., Weaver, T., Webster, N.S., Wehrle, B., Weisenhorn, P., Weiss, S., Werner, J.J., West, K., Whitehead, A., Whitehead, S.R., Whittingham, L.A., Willerslev, E., Williams, A.E., Wood, S.A., Woodhams, D.C., Yang, Y., Zaneveld, J., Zarronaindia, I., Zhang, Q., Zhao, H., 2017. A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. *Nature* 551, 457–463. <https://doi.org/10.1038/nature24621>
- Thrall, P.H., Hochberg, M.E., Burdon, J.J., Bever, J.D., 2007. Coevolution of symbiotic mutualists and parasites in a community context. *Trends Ecol. Evol.* 22, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.007>
- Tilman, D., 2001. Functional Diversity, in: *Encyclopedia of Biodiversity*. Elsevier, pp. 109–120. <https://doi.org/10.1016/b0-12-226865-2/00132-2>
- Tirard, C.T., Grossfeld, R.M., Levine, J.F., Kennedy-Stoskopf, S., 1997. Effect of osmotic shock on protein synthesis of oyster hemocytes in vitro. *Comp. Biochem. Physiol. - A Physiol.* 116, 43–49. [https://doi.org/10.1016/S0300-9629\(96\)00115-6](https://doi.org/10.1016/S0300-9629(96)00115-6)
- Tout, J., Siboni, N., Messer, L.F., Garren, M., Stocker, R., Webster, N.S., Ralph, P.J., Seymour, J.R., 2015. Increased seawater temperature increases the abundance and alters the structure of natural *Vibrio* populations associated with the coral *Pocillopora damicornis*. *Front. Microbiol.* 6, 432. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2015.00432>
- Trabal Fernández, N., Mazón-Suástegui, J.M., Vázquez-Juárez, R., Ascencio-Valle, F., Romero, J., 2014. Changes in the composition and diversity of the bacterial microbiota associated with oysters (*Crassostrea corteziensis*, *Crassostrea gigas* and *Crassostrea sikamea*) during commercial production. *FEMS Microbiol. Ecol.* 88, 69–83. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12270>
- Troost, K., 2010. Causes and effects of a highly successful marine invasion: Case-study of the introduced Pacific oyster *Crassostrea gigas* in continental NW European estuaries. *J. Sea Res.* <https://doi.org/10.1016/j.seares.2010.02.004>

- Troost, K., Gelderman, E., Kamermans, P., Smaal, A.C., Wolff, W.J., 2009. Effects of an increasing filter feeder stock on larval abundance in the Oosterschelde estuary (SW Netherlands). *J. Sea Res.* 61, 153–164. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2008.11.006>
- Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., Magrini, V., Mardis, E.R., Gordon, J.I., 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444, 1027–1031. <https://doi.org/10.1038/nature05414>

## V

- Valiela, I., McClelland, J., Hauxwell, J., Behr, P.J., Hersh, D., Foreman, K., 1997. Macroalgal blooms in shallow estuaries: Controls and ecophysiological and ecosystem consequences. *Limnol. Oceanogr.* 42, 1105–1118. [https://doi.org/10.4319/lo.1997.42.5\\_part\\_2.1105](https://doi.org/10.4319/lo.1997.42.5_part_2.1105)
- Van Alstyne, K.L., Nelson, T.A., Ridgway, R.L., 2015. Environmental chemistry and chemical ecology of “green tide” Seaweed blooms, in: *Integrative and Comparative Biology*. Oxford University Press, pp. 518–532. <https://doi.org/10.1093/icb/icv035>
- Van Buskirk, J., Ostfeld, R.S., 1995. Controlling Lyme Disease by Modifying the Density and Species Composition of Tick Hosts. *Ecol. Appl.* 5, 1133–1140. <https://doi.org/10.2307/2269360>
- Van Der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D., Van Straalen, N.M., 2008. The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>
- van Veelen, H.P.J., Falcao Salles, J., Tieleman, B.I., 2017. Multi-level comparisons of cloacal, skin, feather and nest-associated microbiota suggest considerable influence of horizontal acquisition on the microbiota assembly of sympatric woodlarks and skylarks. *Microbiome* 5, 156. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0371-6>
- Vandenkoornhuysse, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Le Van, A., Dufresne, A., 2015. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytol.* <https://doi.org/10.1111/nph.13312>
- Varma, K., 1994. Phenicoles (florphenicol, thiamphenicol and chloramphenicol). *Proc. 'Antibiotics Anim. Intensive Prod. Symp.* 64–65.
- Vayssier-Taussat, M., Albina, E., Citti, C., Cosson, J.-F., Jacques, M.-A., Lebrun, M.-H., Le Loir, Y., Ogliastro, M., Petit, M.-A., Roumagnac, P., Candresse, T., 2014. Shifting the paradigm from pathogens to pathobiome: new concepts in the light of meta-omics. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 4, 29. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00029>
- Vazquez, L., Alpuche, J., Maldonado, G., Agundis, C., Pereyra-Morales, A., Zenteno, E., 2009. Review: Immunity mechanisms in crustaceans. *Innate Immun.* 15, 179–188. <https://doi.org/10.1177/1753425909102876>
- Vogeler, S., Bean, T.P., Lyons, B.P., Galloway, T.S., 2016. Dynamics of nuclear receptor gene expression during Pacific oyster development. *BMC Dev. Biol.* 16, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12861-016-0129-6>
- Vollmer, B., Grünewald, K., 2020. Herpesvirus membrane fusion – a team effort. *Curr. Opin. Struct. Biol.* <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2019.12.004>

## W

---

- Wallin, I.E., 1925. On the nature of mitochondria. IX. Demonstration of the bacterial nature of mitochondria. *Am. J. Anat.* 36, 131–149. <https://doi.org/10.1002/aja.1000360106>
- Wang, J., Lu, J., Zhang, Y., Wu, J., 2020. Microbial ecology might serve as new indicator for the influence of green tide on the coastal water quality: Assessment the bioturbation of *Ulva prolifera* outbreak on bacterial community in coastal waters. *Ecol. Indic.* 113, 106211. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106211>
- Wang, L., Song, X., Song, L., 2018. The oyster immunity. *Dev. Comp. Immunol.* 80. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.05.025>
- Ward, J.E., Shumway, S.E., 2004. Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension- and deposit-feeding bivalves. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 300, 83–130. <https://doi.org/10.1016/J.JEMBE.2004.03.002>
- Ward, J.R., Lafferty, K.D., 2004. The Elusive Baseline of Marine Disease: Are Diseases in Ocean Ecosystems Increasing? *PLoS Biol.* 2, e120. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020120>
- Wegner, K.M., Volkenborn, N., Peter, H., Eiler, A., 2013. Disturbance induced decoupling between host genetics and composition of the associated microbiome. *BMC Microbiol.* 13, 252. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-252>
- Wehrmann, A., Herlyn, M., Bungenstock, F., Hertweck, G., Millat, G., 2000. The distribution gap is closed - first record of naturally settled Pacific oysters *Crassostrea gigas* in the East Frisian Wadden Sea, North Sea. *Senckenbergiana Maritima* 30, 153–160. <https://doi.org/10.1007/BF03042964>
- Weiher, E., Keddy, P.A., 1995. Assembly Rules, Null Models, and Trait Dispersion: New Questions from Old Patterns. *Oikos* 74, 159. <https://doi.org/10.2307/3545686>
- Whittington, R., Hick, P., Rubio, A., Dhand, N., Evans, O., 2015. Aquatic Animal Health Subprogram: Pacific oyster mortality syndrome (POMS)-risk mitigation, epidemiology and OsHV-1 biology.
- Whittington, R.J., Hick, P.M., Evans, O., Rubio, A., Alford, B., Dhand, N., Paul-Pont, I., 2015. Protection of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) spat from mortality due to ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1  $\mu$ Var) using simple treatments of incoming seawater in land-based upwellers. *Aquaculture* 437. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.11.016>
- Wijesekara, I., Kim, S.K., Li, Y., Li, Y.X., 2011. Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. *Process Biochem.* <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.09.015>
- Wilson, M.E., 1995. Infectious diseases: An ecological perspective. *BMJ* 311, 1681. <https://doi.org/10.1136/bmj.311.7021.1681>
- Woodford, D.J., McIntosh, A.R., 2010. Evidence of source–sink metapopulations in a vulnerable native galaxiid fish driven by introduced trout. *Ecol. Appl.* 20, 967–977. <https://doi.org/10.1890/08-1909.1>

## X

---

- Xue, Q., Renault, T., 2000. Enzymatic activities in European flat oyster, *Ostrea edulis*, and Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, hemolymph. *J. Invertebr. Pathol.* 76, 155–163. <https://doi.org/10.1006/jipa.2000.4965>

## Y

- Ye, N. hao, Zhang, X. wen, Mao, Y. ze, Liang, C. wei, Xu, D., Zou, J., Zhuang, Z. meng, Wang, Q. yin, 2011. “Green tides” are overwhelming the coastline of our blue planet: Taking the world’s largest example. *Ecol. Res.* <https://doi.org/10.1007/s11284-011-0821-8>
- Yeh, H., Skubel, S.A., Patel, H., Cai Shi, D., Bushek, D., Chikindas, M.L., 2020. From Farm to Fingers: an Exploration of Probiotics for Oysters, from Production to Human Consumption. *Probiotics Antimicrob. Proteins* 2020 122 12, 351–364. <https://doi.org/10.1007/S12602-019-09629-3>
- Young, T., Kesarcodi-Watson, A., Alfaro, A.C., Merien, F., Nguyen, T. V., Mae, H., Le, D. V., Villas-Bôas, S., 2017. Differential expression of novel metabolic and immunological biomarkers in oysters challenged with a virulent strain of OsHV-1. *Dev. Comp. Immunol.* 73, 229–245. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.03.025>
- Yue, C., Li, Q., Yu, H., 2018. Gonad Transcriptome Analysis of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas* Identifies Potential Genes Regulating the Sex Determination and Differentiation Process. *Mar. Biotechnol.* 20, 206–219. <https://doi.org/10.1007/s10126-018-9798-4>

## Z

- Zaneveld, J.R., McMinds, R., Thurber, R.V., 2017. Stress and stability: Applying the Anna Karenina principle to animal microbiomes. *Nat. Microbiol.* <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.121>
- Zannella, C., Mosca, F., Mariani, F., Franci, G., Folliero, V., Galdiero, Marilena, Tiscar, P.G., Galdiero, Massimiliano, 2017. Microbial diseases of bivalve mollusks: Infections, immunology and antimicrobial defense. *Mar. Drugs.* <https://doi.org/10.3390/md15060182>
- Zhang, Guofan, Fang, X., Guo, X., Li, L., Luo, R., Xu, F., Yang, P., Zhang, L., Wang, X., Qi, H., Xiong, Z., Que, H., Xie, Y., Holland, P.W.H., Paps, J., Zhu, Y., Wu, F., Chen, Y., Wang, Jiafeng, Peng, C., Meng, J., Yang, L., Liu, J., Wen, B., Zhang, N., Huang, Z., Zhu, Q., Feng, Y., Mount, A., Hedgecock, D., Xu, Z., Liu, Y., Domazet-Lošo, T., Du, Y., Sun, X., Zhang, Shoudu, Liu, B., Cheng, P., Jiang, X., Li, J., Fan, D., Wang, W., Fu, W., Wang, T., Wang, B., Zhang, J., Peng, Z., Li, Yingxiang, Li, Na, Wang, Jinpeng, Chen, M., He, Y., Tan, F., Song, X., Zheng, Q., Huang, R., Yang, Hailong, Du, X., Chen, L., Yang, M., Gaffney, P.M., Wang, S., Luo, L., She, Z., Ming, Y., Huang, W., Zhang, Shu, Huang, B., Zhang, Y., Qu, T., Ni, P., Miao, G., Wang, Junyi, Wang, Q., Steinberg, C.E.W., Wang, H., Li, Ning, Qian, L., Zhang, Guojie, Li, Yingrui, Yang, Huanming, Liu, X., Yin, Y., Wang, Jun, 2012. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature* 490, 49–54. <https://doi.org/10.1038/nature11413>
- Zhang, L., Li, L., Guo, X., Litman, G.W., Dishaw, L.J., Zhang, G., 2015. Massive expansion and functional divergence of innate immune genes in a protostome. *Sci. Rep.* 5, 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep08693>
- Zinsstag, J., 2016. One Health: EcoHealth 2016: Welcome from the President of the International Association for Ecology and Health. *EcoHealth* 2016 134 13, 613–614. <https://doi.org/10.1007/S10393-016-1180-2>
- Zinsstag, J., 2013. Convergence of Ecohealth and One Health. *EcoHealth* 2013 94 9, 371–373. <https://doi.org/10.1007/S10393-013-0812-Z>
- Zozaya-Valdés, E., Roth-Schulze, A.J., Egan, S., Thomas, T., 2017. Microbial community function in the bleaching disease of the marine macroalgae *Delisea pulchra*. *Environ. Microbiol.* 19, 3012–3024. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13758>



# Bilan de la thèse

---



## 1. Publications

- Article publié dans Journal of Animal Ecology (février 2022)

**Dugény, E.**, de Lorgeril, J., Petton, B., Toulza, E., Gueguen, Y., Pernet, F., 2022. Seaweeds influence oyster microbiota and disease susceptibility. *J. Anim. Ecol.* 00, 1-14  
<https://doi.org/10.1111/13652656.13662>

- Article en cours de préparation

**Dugény, E.**, de Lorgeril, J., Petton, B., Toulza, E., Gueguen, Y. and Pernet, F. (*in prep*).  
Geographic and temporal effects of green algae on oysters exposed to viral infection.

- Publication hors thèse

Gauff, R.P.M., Bejarano, S., Madduppa, H.H., Subhan, B., **Dugény, E.M.A.**, Perdana, Y.A., Ferse, S.C.A., 2018. Influence of predation risk on the sheltering behaviour of the coral-dwelling damselfish, *Pomacentrus moluccensis*. *Environ. Biol. Fishes* 101.  
<https://doi.org/10.1007/s10641-018-0725-3>

## 2. Conférences internationales

**Dugény, E.**, Petton, B., Pernet, F. Présentation orale: The influence of surrounding species on the disease risk of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. AQUA 2018, session Agriculture/Aquaculture Circular Co-Production and Eco-Intensification, World Aquaculture Society (WAS), Montpellier (Corum), France, 25-29 Août 2018.

**Dugény, E.**, de Lorgeril, J., Petton, B., Toulza, E., Gueguen, Y. and Pernet, F.  
Présentation orale: The influence of surrounding species on *Crassostrea gigas* disease risk in Pacific Oyster farming. VIVALDI Final Conference, Understanding complex interactions between animal, environment, pathogens and health for risk assessment (Work package 4), Brest (Pôle numérique Brest Iroise), France, 26-28 Novembre 2019.

## 3. Colloques

**Dugény, E.**, de Lorgeril, J., Petton, B., Toulza, E., Gueguen, Y. and Pernet, F.  
Présentation orale (format MT180) : Influence des communautés environnantes sur le risque de maladie de l'huître creuse.

Présentation orale : Influence des macroalgues sur la survie de l'huître creuse en contexte de maladie.

Journées "Mollusques Marins et Conchyliculture" 2020, évènement d'animation scientifique Ifremer, Logonna-Daoulas, France, 2-3 Mars 2020.

**Dugény, E.**, de Lorgeril, J., Petton, B., Toulza, E., Gueguen, Y. and Pernet, F.  
Présentation orale : Influence de communautés environnantes sur le microbiote de son risque de maladie en milieu marin. AFEM 2021, 10<sup>ème</sup> colloque de l'AFEM (Association Francophone d'Ecologie Microbienne), session « Pathogènes et Environnement », Aix-Marseille Université, CNRS, IRD, Visio-conférence, France, 15-19 Novembre 2021.  
**Prix de la meilleure présentation orale.**

#### 4. Enseignement

- Mission d'enseignement à l'Université de Bretagne Occidentale durant l'année universitaire 2018/2019 :

64 heures de TD et TP dans les unités d'enseignement :

- Diversité de la biologie: Biologie animale (L1)
- Diversité de la biologie: Biologie végétale (L1)
- Biologie animale (L2)
- Biologie animale (L3)

- Mission d'enseignement à l'Université de Bretagne Occidentale durant l'année universitaire 2019/2020 :

64 heures de TD et TP dans les unités d'enseignement :

- Diversité de la biologie: Biologie végétale (L1)
- Biologie végétale (L2)
- Biologie animale (L2)
- Biologie des populations (L3)

#### 5. Science et Société

Il est devenu essentiel aujourd'hui de rendre accessible les connaissances au plus grand nombre. Plus que jamais, la Science doit être à portée de main de la société. Le rôle et la responsabilité du scientifique réside donc aussi dans le devoir d'informer les acteurs de la société civile des découvertes obtenues en Recherche publique. C'est une contribution à l'avancée et la diffusion des connaissances pour éveiller l'esprit des citoyens, les rendre conscients, leur donner les clefs pour comprendre les enjeux actuels et les amener à être acteurs en faveur d'un avenir plus réfléchi et durable. Cette thèse a offert l'opportunité de transmettre quelques savoirs à la société et de faire découvrir à divers publics le sujet d'étude à travers le partage de la Science.



Liste des interventions dans divers évènements de médiation :

- « Petits détectives de l'estran », journée découverte des sciences de la mer pour des classes primaires CM1 et CM2, AMURE, IUEM, Plouzané, 16 novembre 2017
- « Fête de la Science » 2018, IFREMER, Quartz Congrès, Brest, 8-11 octobre 2018
- « Fête de la Science » 2019, IFREMER, Quartz Congrès, Brest, 10-13 septembre 2019
- « Agir dans un monde incertain », accueil de classes de lycée, Petits Débrouillards et IFREMER, Plouzané, 12 décembre 2019
- « Débattre sans se battre », accueil de classes de lycée, IFREMER, Plouzané, décembre 2019
- « #UneMinuteDeScienceAvec », Web-série IFREMER, Plouzané, 26 mai 2020
- « Découverte de l'estran », Petits Débrouillards, Brest, 17 juillet 2020
- « Ma thèse en 180 secondes », lauréate 2020 (premier prix du public) de la finale régionale Bretagne-Pays de Loire, Brest, 12 mars 2020 (*Edition 2020 avec Finale Nationale annulée en cours d'année*)
- « Fête de la Science » 2020, IFREMER, Atelier des Capucins, Brest, 10-11 octobre 2020
- « Nuit Européenne des Chercheurs » 2020, Océanopolis, Brest, 27 novembre 2020
- « All-Atlantic Youth Ambassador », sélectionnée pour représenter la France parmi 16 pays de l'Atlantique dans la cohorte des ambassadeurs 2021-2022, dans le cadre de l'alliance All-Atlantic Ocean Research Alliance (AANCHOR)
- « Thésez-vous? », Web-série IFREMER, Plouzané, 13 janvier 2021
- « [ECO]conseillers de l'Océan» 2021-2022, Océanopolis et Académie de Rennes, Brest
- « Objectif ODD », intervention pour l'Education au Développement Durable dans l'ODD3, Océanopolis et Académie de Rennes, Brest, 16 mars 2020
- « Ma thèse en 180 secondes », lauréate 2021 (premier prix du jury) de la Finale Régionale Bretagne-Pays de Loire, Angers, 17 mars 2021
- « Adopt a Float », interventions autour des Microplastiques dans trois classes de primaire CM1 et CM2, Brest, 8 9 et 11 mars 2021
- « *Initium Maris Civis* », Associations Passerelle et CAP vers la Nature, IFREMER, Concarneau 12 mars 2021
- « Ma thèse en 180 secondes », lauréate demi-finale, sélection pour la Finale Nationale, 1<sup>er</sup> avril 2021
- « SEA-EU DOC » training event (Career development for doctoral students), intervention en tant que 'professionnelle experte' dans la session « How to pitch? », organisé par

l'Université de Bretagne Occidentale, dans le cadre du partenariat stratégique Erasmus+ de l'Union européenne, Brest, 20 mai 2021

- « Science en Theizh », participation à la table ronde sur la thématique « Face à la crise écologique, les scientifiques doivent-ils hausser le ton ? », Associations de doctorants MerSciDoc et Dakodoc en partenariat avec Brest Métropole, le CROUS, la CVEC, la PEPSE et l'Ecole Doctorale Bretagne-Loire, Atelier des Capucins, Brest, 5 juin 2021
- « Ma thèse en 180 secondes », finaliste à la Finale Nationale 2021, Paris, 10 juin 2021
- « Nuit Européenne des Chercheurs » 2021, Océanopolis, Brest, 24 septembre 2021
- « Fête de la Science » 2021, Conférence grand public (45 minutes) « Quelle influence peuvent avoir les êtres vivants environnants sur la sensibilité de l'huître aux maladies en milieu marin ? », Atelier des Capucins, Brest, 10 octobre 2021

**Titre : Influence des communautés environnantes sur le risque de maladie de l'huître creuse dans les écosystèmes marins**

**Mots clés :** Bivalve, maladie, interactions biotiques, holobionte, microbiome, pathogènes

**Résumé :** Les maladies infectieuses structurent les communautés vivantes dans les écosystèmes et dépendent des interactions hôte-pathogène-environnement. Dans cet « interactome », l'effet de facteurs biotiques sur le risque infectieux en milieu marin, a reçu moins d'attention que les facteurs abiotiques. Pourtant, un animal n'est jamais isolé dans son milieu et est en perpétuelle interaction avec d'autres organismes. Lui-même, en tant qu'holobionte, est dépendant de l'équilibre de son microbiome. Ainsi, ce travail de thèse s'est articulé sur l'influence de communautés d'algues environnantes sur le modèle de l'huître creuse et sa sensibilité à une infection virale.

Les algues vertes se sont avérées être un facteur aggravant pour la survie de l'huître, tout en causant une déstabilisation de son microbiote. Ces résultats ont été observés avec des algues de différentes origines géographiques et sur deux années. Par cette approche holistique, ces observations ont permis d'amener des perspectives dans le concept de « pathobiome ».

Les résultats obtenus apportent des éléments de compréhension des effets biotiques sur les interactions hôte-pathogène et contribuent à une meilleure connaissance de facteurs de risques d'émergence de maladie.

**Title : Influence of surrounding communities on the Pacific oyster disease risk in marine environments**

**Keywords :** Bivalve, disease ecology, biotic interactions, holobionte, microbiome, pathogen

**Abstract :** Infectious diseases are structuring living communities in ecosystems and rely on host-pathogen-environment interactions. In this "interactome", the effect of biotic factors on the disease risk in marine environments has received less attention than abiotic factors. However, animals are never isolated in the environment and are in constant interaction with other organisms. As holobionts, they are also dependent on their microbiome equilibrium. In this context, this PhD thesis focused on the influence of surrounding algae communities on the Pacific oyster and its susceptibility to a viral infection

Green algae have been shown to decrease oysters' survival in disease context, while causing a disruption of the oyster microbiome. These results were observed with algae of different geographical origins and over two years. Through this holistic approach, these observations allow to bring perspectives into the "pathobiome" concept.

The results obtained provide elements for understanding the biotic effects on host-pathogen interactions and contribute to a better understanding of risk factors for disease emergence.