

JOURNÉE DU MICROBIOME

29 Juin 2023 – Centre Atlantique, Nantes

Heures		
08:30	Accueil - Café	
08:55	Bienvenue	
09:00	Microbiote intestinal et santé humaine : où en sommes-nous ?	<i>Catherine Michel</i>
09:30	Microbiote actif associé aux élevages de la crevette bleue du Pacifique : influence de l'eau du lagon et adaptation potentielle aux conditions d'élevage en Nouvelle-Calédonie	<i>Nolwenn Callac & Valérie Perez</i>
09:50	Exploration des propriétés probiotiques de <i>Pseudoalteromonas</i> issues du microbiote d'organismes marins	<i>Helena Cuny</i>
10:10	Effet de la durée d'exondation sur les microbiotes bactériens chez l'huître et la palourde	<i>Gwenaëlle Le Blay</i>
10:30	Pause café	
11:00	Optimisation des approches génomiques pour décrire le virome humain après rejet dans l'environnement	<i>Soizick Le Guyader</i>
11:20	Exploring seafood microbiomes : from bacterial community structures towards functional insights	<i>Sabrina Macé & Delphine Passerini</i>
11:40	Sea-Monitor: A genomic diagnostic suitcase based on Nanopore sequencing	<i>Germain Chevignon</i>
12:00	Avantage du séquençage long-read nanopore en Microbiologie et nouveautés chez Oxford Nanopore	<i>Maud Carrier</i>
12:20	Les principes FAIR appliqués au metabarcoding	<i>Maude Jacquot</i>
12:40	Déjeuner	
14:00	Quand l'écotoxicologie rencontre le microbiote : l'exemple de l'impact des efflorescences de cyanobactéries sur le microbiote digestif des poissons	<i>Sébastien Duperron</i>
14:30	Periphytic and sediment microbiomes in aquatic ecotoxicology: Current challenges and perspectives	<i>Nicolas Creusot</i>
14:50	Microbiote de glandes digestives de <i>Dreissena polymorpha</i> – Identification de bactéries apparentées aux rickettsies	<i>Pascal Poupin</i>
15:10	Etude des interactions microalgues-bactéries par des approches réductionnistes	<i>Enora Briand & Matthieu Garnier</i>
15:30	Pause café	
16:00	Bacterial microbiota of <i>Ostreobium</i> , the coral-isolated chlorophyte ectosymbiont, at contrasted salinities	<i>Anaïs Massé</i>
16:20	The Pacific oyster mortality syndrome : a polymicrobial and multifactorial disease	<i>Léo Duperret</i>
16:40	Insights into the virulence mechanisms of <i>Vibrio harveyi</i> , a potent pathogen of the European abalone	<i>François Delavat</i>
17:00	Teaching Oysters to Fight Back: The Role of Microbial Education in Immune System Development of <i>Crassostrea gigas</i> to fight infectious diseases	<i>Luc Dantan</i>
17:20	Le pathobiome dans les maladies des moules marines du genre <i>Mytilus</i>	<i>Yosra Ben Cheikh</i>
17:40	Cloture	

Microbiote intestinal et santé humaine : où en sommes-nous ?

Catherine Michel*

** UMR 1280 PhAN – INRAE, Nantes Université*

L'intérêt pour les microorganismes présents dans notre intestin est déjà ancien mais il s'est considérablement amplifié au cours des dernières décennies : le développement des méthodes de séquençage a autorisé des progrès considérables dans la description du microbiote intestinal : le métabarcoding a rendu possible l'identification des facteurs influençant sa diversité taxonomique tandis que la métagénomique permet l'analyse de ses potentialités fonctionnelles. Ces dernières sont si considérables que le microbiote intestinal est assimilable à un véritable organe qui assure de nombreuses fonctions essentielles pour la santé humaine, depuis la régulation de la barrière intestinale et du système immunitaire jusqu'à la modulation du métabolisme ainsi que du bien-être mental. Catherine Michel fera le point sur les connaissances les plus récentes relatives au microbiote intestinal, la diversité de ses fonctions et leurs potentielles implications dans le maintien de l'état de santé et son éventuel intérêt en termes d'élimination de polluants.

Microbiote actif associé aux élevages de la crevette bleue du Pacifique, *Penaeus stylirostris* : influence de l'eau du lagon et adaptation potentielle aux conditions d'élevage en Nouvelle-Calédonie

Valérie Perez*, Viviane Boulo, Carolane Giraud, Dominique Ansquer, Julien De Lorgeril, Nelly Wabete, Dominique Pham, Nolwenn Callac*

** LEAD-NC – Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER)*

La crevetticulture, l'une des principales activités économiques en Nouvelle-Calédonie, est impactée par des mortalités larvaires massives et des vibrioses dans les bassins de grossissement entraînant d'importantes baisses de production et des pertes financières majeures pour les aquaculteurs et le Territoire. Les causes de ces mortalités larvaires sont mal connues et une dysbiose du microbiote de l'eau d'élevage ou de celui des animaux est l'une des hypothèses pouvant expliquer ces mortalités. En effet, les crevettes en contact permanent avec l'eau, interagissent avec des micro-organismes qui peuvent être impliqués dans leur développement, leur immunité et leur santé, d'où le rôle important des interactions entre les crevettes, leur système immunitaire, leur microbiote, et le microbiote de l'eau d'élevage. Aussi les géniteurs influencent la qualité des larves, avec une potentielle transmission verticale de certains taxa et la question se pose concernant l'influence de l'eau du lagon. Par ailleurs, chez les crevettes, l'hémolymphe étant un système semi-ouvert contenant les hémocytes, cellules clés de l'immunité, il constitue un compartiment déterminant des interactions entre l'immunité et le microbiote. Dans ce contexte, nous avons étudié d'une part, la diversité microbienne active de l'eau d'élevage larvaire couplée à des analyses zootechniques et chimiques de l'eau afin de mettre en évidence des lignées microbiennes pouvant être associées aux taux de mortalité et à différents stades larvaires. D'autre part, nous avons caractérisé le microbiote actif de l'hémolymphe de géniteurs en parallèle de la quantification de l'expression d'effecteurs liés à l'immunité chez la crevette afin d'établir pour la 1^{ère} fois le profil microbien et immunitaire de crevettes élevées dans un même bassin. Nos résultats indiquent que le microbiote actif de l'eau d'élevage est influencé par l'eutrophisation progressive de l'eau, le stade larvaire et le taux de survie. A l'échelle individuelle, chez les géniteurs, le microbiote dans l'hémolymphe est très variable de même que l'expression relatives des effecteurs antimicrobiens, suggérant une potentielle adaptation entre le microbiote et les effecteurs antimicrobiens. Les biomarqueurs identifiés aux stades larvaires pourraient donc être utilisés comme un outil de détection précoce dans l'eau de mer afin de prédire l'évolution des élevages chez la crevette.

Exploration des propriétés probiotiques de *Pseudoalteromonas* issues du microbiote d'organismes marins

Helena Cuny*

* LBCM – Université de Bretagne Occidentale (UBO)

Sur la base de la théorie de l'hologénome, le microbiote hémolymphatique d'animaux suspensivores benthiques a été exploré afin d'identifier des bactéries présentant des activités antibactériennes qui pourraient jouer un rôle dans la défense de l'hôte. Des bactéries du genre *Pseudoalteromonas* ont ainsi été isolées de l'hémolymphe d'huîtres creuses et plates. Les composés antibactériens nommés alterines ont été identifiés et caractérisés tant au niveau structural que fonctionnel (Desriac et al., 2020, Offret et al., 2022). Les analyses génomiques ont montré que certaines souches appartiennent à une nouvelle espèce de *Pseudoalteromonas* nommée *Pseudoalteromonas ostreae* (Cuny et al., 2021). Nous avons exploré leur potentiel comme probiotique en aquaculture, notamment leurs effets sur les performances zootechniques et la modulation du microbiote des animaux ainsi que la formation de biofilms. Après une balnéation de 4h des animaux en présence des *Pseudoalteromonas* à 10⁶ UFC/ml, nous avons observé une amélioration de la survie de l'ormeau *Haliotis tuberculata* (Offret et al., 2019) et du bar commun *Dicentrarchus labrax* face à une infection bactérienne (*Vibrio harveyi*). De plus, dans le cadre d'un projet FEAMP, la fécondité de l'huître plate *Ostrea edulis* semble elle aussi avoir été favorisée avec une émission larvaire jusqu'à 4 fois supérieure au contrôle. Enfin, plusieurs souches présentent un effet significatif en réduisant la formation de biofilms dans les bassins d'aquaculture. Si les effets probiotiques des souches sont indéniables, les mécanismes moléculaires mis en jeu restent à clarifier.

Mots-Clés: Alterines ; Microbiote ; Probiotique ; *Pseudoalteromonas*

Effet de la durée d'exondation sur les microbiotes bactériens chez l'huître et la palourde

Clément Offret, Sauvann Paulino, Olivier Gauthier, Kevin Château, Adeline Bidault, Charlotte Corporeau, Philippe Miner, Bruno Petton, Fabrice Pernet, Caroline Fabioux, Christine Paillard, Gwenaëlle Le Blay*

* LEMAR – Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER), Université de Bretagne Occidentale (UBO), Centre National de la Recherche Scientifique - CNRS, Institut de recherche pour le développement (IRD): UMR6539

Les microbiotes digestifs possèdent un large éventail d'effets bénéfiques sur la physiologie de l'hôte. Ils sont susceptibles de jouer un rôle clé dans la capacité des bivalves intertidaux à s'acclimater à différentes durées d'exondation. Dans cette étude, nous avons regardé l'effet de différents niveaux d'exondation sur les microbiomes bactériens digestifs d'huîtres (*Crassostrea gigas*) et de palourdes (*Ruditapes philippinarum*), deux bivalves ayant des niches écologiques différentes. Une approche de métagénomique ciblée (région V3-V4 du gène de l'ARNr 16S) a permis de montrer que les communautés bactériennes des glandes digestives, de l'eau de mer et des sédiments abritaient des microbiomes différents. L'implantation des bivalves sur le terrain (3,5 mois) a modifié leurs microbiomes digestifs différemment selon leur position intertidale. Après une dépuration de 14 jours, ces effets étaient toujours présents chez les deux espèces. Cependant, alors que le microbiome digestif des huîtres était également influencé par des changements environnementaux à court terme celui des palourdes n'était influencé que par leur position dans la zone intertidale. Un séjour de 3,5 mois dans la zone intertidale a permis de laisser une empreinte environnementale sur le microbiote bactérien digestif, suggérant la présence de bactéries autochtones. En comparant les palourdes des trois niveaux intertidaux, 20 % de l'assemblage bactérien était partagé entre les trois niveaux intertidaux.

Optimisation des approches génomiques pour décrire le virome humain après rejet dans l'environnement

Soizick Le Guyader*

** IFREMER – Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, Ministère de l'alimentation de l'agriculture et de la pêche, Ministère de l'écologie de l'Energie, du Développement durable et de l'Aménagement du territoire – IFREMER Laboratoire de Microbiologie-LNR, Unité MASAE-LSEM*

Les eaux usées sont le reflet des virus entériques circulant dans la population et disposer d'outils permettant de décrire cette diversité présente un intérêt majeur considérant l'impact de ces rejets sur la contamination du littoral et des coquillages. Cependant ces virus entériques humains possédant des courts génomes d'ARN compliquent leur détection au sein de l'immense diversité des séquences présentes dans les eaux usées. Dans les coquillages le point critique réside surtout dans les faibles concentrations présentes. Depuis quelques années le LSEM a développé des méthodes pour la sélection de particules virales et la préparation des bibliothèques. L'optimisation des pipelines de bio-informatique est également une étape importante. En combinant différentes approches, la caractérisation de longs fragments permettant une identification des souches virales devient réalisable, point important pour une approche en santé publique.

Mots-Clés: virome ; metagenomique ; eaux usées ; coquillage

Exploring seafood microbiomes: from bacterial community structures towards functional insights

Sabrina Macé*, Delphine Passerini*

** MASAE – Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER) – France*

Seafood product microbiomes lie at the intersection of bacteria originating from fish and seawater, and from contamination during the food chain processing. During the storage, dynamic of this microbiome is directly related to the spoilage (*i.e.* off-odor production) and to the biological safety. Today, longitudinal approaches combining both classical technics and multi-omics methods allow to characterize the seafood bacterial microbiome. New challenges consist i) in identifying molecular mechanisms involved in bacterial interactions and thus in population structure (*i.e.* antimicrobial compound synthesis) and ii) in establishing the relationships between the population structure and functional responses (spoilage, presence of pathogens). Taking into consideration the bacterial networks and their metabolic potential will open the way for innovative biocontrol strategies based on microbiome engineering.

Sea-Monitor: A genomic diagnostic suitcase based on Nanopore sequencing

Germain Chevignon*, Maude Jacquot, Patrick Durand, Pauline Auffret, Aurélie Dotto-Maurel

* *Unité Adaptation Santé des Invertébrés Marins (IFREMER)*

With the development of high throughput sequencing techniques and dedicated bioinformatics tools, molecular epidemiology has experienced a spectacular boom in recent years and has demonstrated its usefulness in human health for the early detection of emergencies and the understanding of transmission and circulation dynamics of many infectious diseases. Aquaculture is a sector particularly sensitive to infections where flocks are regularly subjected to epizootics causing considerable ecological and economic damage. Currently, the sector lacks methods for early detection, prevention and control of diseases. To address this need, we have developed a tool and methodology to accurately and rapidly identify pathogens that could cause mortality in livestock. As a proof of concept, the SEA-MONITOR project has provided a concrete solution for real-time monitoring of marine mollusc pathogens to significantly improve their prevention and control. The concept is based on the development of a suitcase containing all the laboratory equipment necessary for genomic diagnosis. More precisely, this mini-laboratory is based on the use of Oxford Nanopore Technologies (ONT) portable sequencing technology, which allows to obtain high quality genomic sequences in near-real time. The solution proposed also includes the development of an analysis pipeline allowing the transfer of raw sequencing data to an adhoc calculation server and the automatic analysis of these data to quickly provide an accurate and complete diagnostic report to users. Tests performed in laboratory as well as in the field by our partners have enabled the identification and sequencing of viral and bacterial pathogen genomes within a few days. Results of the SEA-MONITOR project have demonstrated that genomic monitoring and diagnosis represent a promising opportunity for a better management of marine mollusc diseases.

Mots-Clés: Genomic diagnostic ; metagenomic ; microbiome ; portable laboratory ; Nanopore sequencing ; pathogens

Avantage du séquençage long-read nanopore en Microbiologie et nouveautés chez Oxford Nanopore

Maud Carrier*

** Oxford Nanopore Technologies*

Avantage du séquençage long-read nanopore en Microbiologie et nouveautés chez Oxford Nanopore.

Les principes FAIR appliqués au metabarcoding

Cyril Noël, Pauline Auffret, Laura Leroi, Alexandre Cormier, Patrick Durand*

* SeBiMER – Ifremer, Brest – France

L'utilisation des techniques analytiques du metabarcoding est devenue un moyen efficace de caractériser la diversité des organismes, notamment dans l'ensemble des compartiments marins. Si ce travail débute par la collecte d'échantillons pour se poursuivre par l'extraction de l'ADN et le séquençage de gènes marqueurs bien définis, il y a également toute une série d'étapes in silico indispensables pour l'obtention des résultats permettant de caractériser correctement cette biodiversité. Depuis plusieurs années maintenant, le SeBiMER intervient dans la mise en place d'un projet de metabarcoding (plan expérimental, choix du gène marqueur et des primers, ...) et met en œuvre un ensemble de protocoles FAIR couvrant ainsi l'ensemble du cycle de vie d'un projet de recherche metabarcoding, de la donnée de séquençage jusqu'aux résultats. Les principes FAIR sont indispensables pour réaliser des travaux de recherche ouverts, accessibles et reproductibles. En ce qui concerne les données, le SeBiMER a standardisé le stockage, la description (metadonnées) et le téléversement vers l'EBI-ENA de données de séquençage de tout type au moyen du protocole athENA. En ce qui concerne l'analyse, le SeBiMER a standardisé et automatisé la totalité de la chaîne de traitement bioinformatique et biostatistique au moyen du pipeline SAMBA. Conçu pour être performant sur un cluster de calcul, SAMBA intègre l'état de l'art des méthodologies d'analyse metabarcoding. Il surpasse les biais connus des outils de référence par le développement scientifique et méthodologique de nouvelles approches et enfin produit un rapport de résultat intégrant l'ensemble des informations utiles à leur interprétation. L'ensemble de ces protocoles sont appliqués sur de nombreux projets à l'Ifremer. La gestion des données de séquençage concerne plus de 260 projets à ce jour. Le pipeline SAMBA a été appliqué sur différents projets de recherche au sein de l'institut et hors Ifremer. Ils permettent ainsi de disposer à l'Ifremer d'un cadre commun et pérenne dans le temps pour la gestion des données, leur analyse et la production de résultats.

Mots-Clés: FAIR ; pipeline ; metabarcoding

Quand l'écotoxicologie rencontre le microbiote: l'exemple de l'impact des efflorescences de cyanobactéries sur le microbiote digestif des poissons

Sébastien Duperron*, Alison Gallet, Sébastien Halary, Pierre Foucault, Charlotte Duval, Benjamin Marie

* UMR7245 MCAM – Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN)

Le microbiote est une "nouvelle frontière" des Sciences de la Vie, désormais accessible à travers la démocratisation des approches "omiques" qui ont révélé son rôle clé dans de nombreux aspects de la biologie des organismes. Souvent localisé à l'interface entre l'hôte et son environnement, le microbiote est par nature exposé aux contaminants ; il interagit avec eux, rendant sa prise en compte indispensable en écotoxicologie. L'étude de l'impact des efflorescences de cyanobactéries toxigènes sur le microbiote digestif associé aux poissons téléostéens d'eau douce illustre à la fois le potentiel d'une telle approche intégrée, mais aussi ses difficultés et ses limites conceptuelles comme méthodologiques. A partir d'expérimentations menées en microcosmes sur un poisson modèle (*Oryzias latipes*) exposé à la cyanobactérie responsable de la majorité des efflorescences en milieu tempéré (*Microcystis aeruginosa*), nos résultats montrent que ce stress, le plus fréquent rencontré par les poissons peuplant les plans d'eau, provoque des variations dose-dépendantes de la composition des communautés bactériennes du tube digestif, ainsi que des modifications fonctionnelles qui pourraient découler de ce changement de microbiote. Ce travail souligne la pertinence d'une approche de l'écotoxicologie prenant en compte le microbiote. La bonne intégration de ces deux disciplines est toutefois un défi qui impose de revoir les approches classiques utilisées par chacune, notamment lorsqu'il s'agit de faire dialoguer les résultats obtenus en microcosme avec les observations réalisées en milieu naturel.

Mots-Clés: symbiose ; cyanotoxines ; microcystine ; métabolomique ; métagénomique

Periphytic and sediment microbiomes in aquatic ecotoxicology: Current challenges and perspectives

Nicolas Creusot*, Chloé Bonnineau, Marina Coquery, Aymeric Dabrin, Melissa Eon, Christelle Margoum, Nicolas Mazzella, Cécile Miege, Soizic Morin, Stéphane Pesce

* *UR EABX, Bordeaux Metabolome – INRAE*

One major challenge of ecotoxicology is to better understand the causal links between exposure to chemical mixtures and the impairment of ecosystem functions and services in a multi-stress context. To this aim, aquatic microbial communities are increasingly used because of their high taxonomic and functional diversity and their key role in multiple ecosystem processes. Hence, the last decades have seen the implementation of in situ and laboratory experiments associated to the development of various descriptors at the functional and structural levels to unravel the response of these assemblages to various chemical stresses (*i.e.* macropollutants, micropollutants) and to further improve biomonitoring of freshwater ecosystem chemical and ecological qualities. In particular, research units from INRAE have studied periphytic and sediment microbial communities to address both fundamental and practical research questions along the exposure-fate-effects continuum. These researches overall support a better understanding of the role of aquatic microbial communities in the fate of chemicals (toxicokinetic) and their response to chemical exposure at structural and functional levels (toxicodynamic). These researches also strongly support the improvement of biomonitoring of the chemical and ecological quality of aquatic ecosystems. For both purpose, numerous structural (*e.g.* teratogenesis, distribution of tolerant vs sensitive species) and functional (*e.g.* tolerance and biodegradation capacities) have been developed and implemented under controlled conditions and in the field. The implementation of omics approaches are currently tested as potential early and sensitive markers of exposure and effects at the community level (*e.g.* metabolomics, lipidomics). Current advantages and limitations of these approaches, as well as scientific challenges, will be illustrated and discussed based on recent and ongoing projects. Indeed, a strong research effort is still needed to (i) better understand the links of biological responses throughout temporal scale (from early responses to chronic) and biological organization (from molecular to individual, population and community responses), (ii) assess the role of phenotypic plasticity and functional redundancy in community resilience to chemical stresses. Such an assessment would be facilitated by the definition of baseline variability, which needs the identification of the environmental factors that drive the spatial and temporal heterogeneity in microbial communities, at both structural and functional levels.

Mots-Clés: freshwater microbial communities ; water biomonitoring ; structural and functional descriptors ; PICT ; omics

Microbiote de glandes digestives de *Dreissena polymorpha* – Identification de bactéries apparentées aux rickettsies

Pascal Poupin*, Laetitia Minguez, Fanny Louis, Laure Giamberini

* *Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux – Institut Ecologie et Environnement, Institut National des Sciences de l'Univers, Observatoire Terre et Environnement de Lorraine*

Les écosystèmes d'eau douce sont d'importants réservoirs de biodiversité qui peuvent être menacés par la pollution générée par les activités humaines. Cette dégradation qui peut être physique, chimique ou biologique compromet le maintien de la biodiversité et la gestion durable des ressources en eau. Depuis l'an 2000, la Directive Cadre européenne sur l'Eau impose aux pays de l'UE une reconquête de la qualité de l'eau et des milieux aquatiques. Afin d'atteindre cet objectif, il est indispensable d'avoir une meilleure connaissance des milieux dulcicoles, via notamment des diagnostics de l'état de santé des organismes aquatiques. Différents outils sont disponibles, tels que l'utilisation d'organismes "sentinelles" ou bioindicateurs. Les bivalves dulcicoles *Dreissena* sp. (*Dreissena polymorpha*, *Dreissena bugensis*) font partie des organismes les plus couramment utilisés pour ce type d'approche. Ces bivalves, originaires de la mer Caspienne et de la mer noire, ont colonisé les cours d'eaux d'Europe en profitant, notamment, des transports de fret sur les fleuves et les canaux. La moule zébrée (*Dreissena polymorpha*) s'est répandue en Europe au milieu du XIXe siècle puis aux Etats-Unis, fin du XXe siècle. La présence de la moule Quagga (*Dreissena bugensis*) en Europe et aux Etats-Unis est plus récente (début XXIe siècle). Ces deux espèces de mollusque sont considérées comme invasives. Les moules filtrent de grandes quantités d'eau pour se nourrir et sont ainsi fortement exposés aux polluants et aux microorganismes. Cette exposition peut induire des altérations qui peuvent être observées au niveau de certains tissus comme les branchies ou la glande digestive (hépatopancréas). Ces facteurs de stress peuvent aussi perturber la stabilité du microbiote de ces tissus. La glande digestive est l'un des tissus les plus riches en microorganismes. Cette microflore comprend le microbiote du système digestif mais aussi des microorganismes pathogènes et des microorganismes apportés lors de la nutrition. Malgré l'importance des bivalves dulcicoles *Dreissena* sp. en bioévaluation, les données sur les relations biotiques hôte-pathogène et hôte-microbiote manquent cruellement. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'étude du microbiote de glandes digestives de bivalves infectées par des bactéries intracellulaires (rickettsia-like organisms). Ces résultats seront présentés lors de cette journée.

Mots-Clés: microbiote ; dreissena ; rickettsia-like organisms ; ecotoxicology

Etude des interactions microalgues-bactéries par des approches réductionnistes

Enora Briand*, Matthieu Garnier*

** Laboratoire GENALG / Unité PHYTOX – IFREMER, Nantes*

Le phytoplancton joue un rôle majeur dans les cycles biogéochimiques de la planète et constitue le premier maillon de la chaîne alimentaire en milieu marin. Les microalgues vivent en association avec un cortège de bactéries qui conditionnent leur environnement proche (la phycosphère). De nombreuses études soulignent l'importance des interactions biotiques au sein de la phycosphère notamment sur leurs capacités métaboliques et la physiologie du phytoplancton, et par extension, sur la fonctionnalité de l'écosystème marin. Cependant, la nature et les impacts de ces interactions au niveau cellulaire et moléculaire restent à ce jour très mal connus. Cette journée sera l'occasion de présenter nos travaux qui, par des approches réductionnistes, visent à mieux comprendre les échanges métaboliques (*e.g.* azote, vitamine B12) entre microalgue/bactérie et (ii) le rôle des exométabolites algaux dans l'assemblage des communautés bactériennes au sein de la phycosphère.

Bacterial microbiota of *Ostreobium*, the coral-isolated chlorophyte ectosymbiont, at contrasted salinities

Anais Massé*, Juliette Detang, Charlotte Duval, Sébastien Duperron, Anthony Woo, Isabelle Domart-Coulon

* *Museum national d'Histoire naturelle – UMR7245 MCAM-CNRS*

Microscopic filaments of the siphonous green algae *Ostreobium* (Ulvophyceae, Bryopsidales) colonize and dissolve the calcium carbonate skeletons of coral colonies, in reef environments of contrasted salinities. Their bacterial composition and plasticity in response to salinity remain unknown. Here, we analyzed the bacteria associated with coral-isolated *Ostreobium* strains from two distinct *rbcL* lineages, representative of Indo-Pacific environmental phylotypes, that had been pre-acclimatized (>9 months) to three ecologically-relevant reef salinities: 32.9, 35.1 and 40.2 psu. Bacterial phylotypes were visualized at filament scale by CARD-FISH in algal tissue sections, localized to the surface, within filaments or in the algal mucilage. *Ostreobium*-associated communities, characterized by bacterial 16S rRNA metabarcoding of cultured thalli and corresponding supernatants, were structured by host genotype more than salinity and partly overlapped with those of environmental (*Ostreobium*-colonized) coral skeletons. Alphaproteobacteria dominated the thalli communities, enriched in Kiloniellaceae or Rhodospirillaceae depending on algal genotype. A small core microbiota composed of 7 ASVs ($\approx 1.5\%$ of thalli ASVs, 19%-36% cumulated proportions), shared by multiple cultures of both *Ostreobium* genotypes and persistent across 3 salinities, included putative intracellular *Amoebophilus* and Rickettsiales bacteria. This novel knowledge on the taxonomic diversity of *Ostreobium* bacterial associates paves the way to functional interaction studies within the coral holobiont.

Mots-Clés: Ulvophyceae ; bacterial communities ; microbiota ; salinity ; 16S rDNA ; metabarcoding ; CARD- FISH

The Pacific oyster mortality syndrome: a polymicrobial and multifactorial disease

Léo Duperré*, Guillaume Mitta, Eve Toulza, Camille Clerissi, Arnaud Lagorce, Alejandro Valdivieso Munoz, Bruno Petton, Fabrice Pernet, Jérémie Vidal-Dupiol

* Interactions Hôtes-Pathogènes-Environnements – Université de Perpignan Via Domitia, Institut français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer, Centre National de la Recherche Scientifique, Université de Montpellier

The Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) has been introduced from Asia to numerous countries around the world during the 20th century. *C. gigas* is the main oyster species farmed worldwide, and represents more than 98% of oyster production. The severity of disease outbreaks that affect *C. gigas*, which primarily impact juvenile oysters, has increased dramatically since 2008. The most prevalent disease, Pacific oyster mortality syndrome (POMS), has become panzootic and represents a threat to the oyster industry. Recently, major steps towards understanding POMS have been achieved through integrative molecular approaches. These studies demonstrated that infection by *Ostreid herpesvirus* type 1 μ Var (OsHV-1 μ var) is the first critical step in the infectious process, and leads to an immunocompromised state by altering hemocyte physiology. This is followed by dysbiosis of the microbiota, which leads to a secondary colonization by opportunistic bacterial pathogens, which in turn results in oyster death. Host and environmental factors (*e.g.* oyster genetics and age, temperature, food availability, microbiota, ...) have been shown to influence POMS permissiveness. However, the mechanisms by which these different factors control disease expression were poorly understood. Our research consortium develops different approaches to decipher these mechanisms and we will present our last advances.

Mots-Clés: Pacific oyster mortality syndrome ; OsHV-1 μ Var ; microbiome ; polymicrobial

Insights into the virulence mechanisms of *Vibrio harveyi*, a potent pathogen of the European abalone *Haliotis tuberculata*

Amandine Morot, Adeline Bidault, Christophe Lambert, Sophie Rodrigues, Alain Dufour, Christine Paillard, François Delavat*

* *Unité en Sciences Biologiques et Biotechnologies de Nantes - UMR CNRS 6286 – Nantes Université - UFR de Médecine et des Techniques Médicales*

Vibrio harveyi ORM4 is a marine bacterium capable of inducing up to 80% mortality in natural populations of European abalone *Haliotis tuberculata*, exclusively during the summer period. The importance of temperature and the animal's physiological state has already been demonstrated in this infectious pair, but the virulence mechanisms brought into play by the bacterium are still unknown. This lack of knowledge is due in particular to the absence of genetic tools available for this strain, and therefore to the absence of genetic mutants for it. We have therefore developed genetic and molecular tools for this strain, enabling replicative plasmids to be introduced into *V. harveyi* ORM4. The construction of bioreporters, *i.e.* transcriptional fusion systems between a promoter of interest and a reporter gene, has shown that motility genes are heterogeneously expressed in this strain. Deletion of the *luxO* and *exsA* genes, regulators of quorum sensing (QS) and the type III secretion system (T3SS) respectively, followed by virulence tests on European abalone revealed the role of these systems in the virulence of *V. harveyi*. We also show that QS regulates the expression of *exsA*, and that the *luxO* mutant is unable to produce biofilm in microplates, unlike the wild-type strain. We then characterized the ability of the *luxO* and *exsA* mutants to colonize the animal and demonstrated that deletion of each of these genes impacts the mutant's ability to maintain itself on the animal's gills. As these organs have been identified as the route of entry for *V. harveyi* ORM4 in *H. tuberculata*, our results highlight the importance of these systems on host colonization. Taken together, our results shed light on the virulence mechanisms of an important pathogen of marine organisms, involving T3SS, quorum sensing and potentially involving adhesion and biofilm production. The link between virulence and biofilm production will be the subject of future studies.

Mots-Clés: *Vibrio harveyi* ; virulence ; abalone ; biofilm ; T3SS ; Quorum sensing

Teaching Oysters to Fight Back: The Role of Microbial Education in Immune System Development of *Crassostrea gigas* to fight infectious diseases

Luc Dantan*, Prunelle Carcassonne, Lionel Degremont, Benjamin Morga, Bruno Petton, Mickael Mege, Elise Maurouard, Jean-François Allienne, Gaëlle Courtay, Océane Romatif, Juliette Pouzadoux, Raphaël Lami, Laurent Intertaglia, Yannick Gueguen, Jérémie Vidal-Dupiol, Eve Toulza, Celine Cosseau

* *Interactions Hôtes-Pathogènes-Environnements – Université de Perpignan Via Domitia, Institut français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer, Centre National de la Recherche Scientifique, Université de Montpellier*

Recently, the frequency and severity of marine diseases have increased in association with global changes, and mollusks of economic interest are particularly concerned. A striking example of a devastating disease is the Pacific Oyster Mortality Syndrome (POMS) caused by the Ostreid Herpesvirus-1 μ Var (OsHV-1 μ Var) that emerged in 2008 and which heavily impacts *Crassostrea gigas* production worldwide by affecting juvenile oysters. Adult oysters are also affected by infectious diseases, especially those caused by the bacterial pathogen *Vibrio aestuarianus*. The present work aims at finding sustainable strategies to help fighting against these infectious diseases. We propose to take profit of the beneficial effect of the natural oyster microbiota to develop prophylactic methods to fight these infectious diseases. We performed an association study based on metabarcoding data from microbiota of resistant vs sensitive oysters that allowed us to identify potential bacterial candidates correlated with oyster resistance. Additionally, previous work has shown that oysters immune defenses can be stimulated by exposing them to microorganisms from the natural environment during their larval development. Following these results, we have generated a collection of bacterial species from disease resistant *C. gigas* and we have characterized their effect on the oysters by an exposure during larval development. We have shown that it's possible to enhance oyster survival capacity by adding microbiota from donor oyster or mixes of bacteria during larval stages. This bacterial exposure leads to changes in bacterial communities and immunity of the oysters resulting to an improvement of the survival against OsHV-1 μ Var and *Vibrio aestuarianus*. These findings underline the major role played by the microbiota for oyster immune protection.

Mots-Clés: *Crassostrea gigas* ; Holobiont ; Microbial education ; Antibacterial activity ; OsHV-1 μ Var ; *Vibrio aestuarianus*

Le pathobiome dans les maladies des moules marines du genre *Mytilus*

Yosra Ben Cheikh*, François Massol, Nathalie Giusti Petrucciani, Marie-Agnès Travers

* UMR Stress Environnementaux et BIOSurveillance des milieux aquatiques – Université Le Havre Normandie

Les études des épizooties marines sont souvent basées sur l'identification d'un seul agent pathogène. Cependant, le paradigme "un pathogène, une maladie" n'est pas toujours suffisant pour expliquer la maladie, en particulier depuis la mise en évidence du rôle du microbiote dans le maintien de l'homéostasie des organismes. En France, des souches de *Vibrio splendidus* ont été associées aux mortalités de *Mytilus edulis*. Une étude précédente a mis en évidence une souche virulente *V. splendidus* 10/068 1T1 capable de coloniser la moule bleue en altérant les activités hématocytaires. Dans cette étude, nous explorons le rôle du microbiote dans la sensibilité de l'hôte aux maladies microbiennes à travers l'étude de la dynamique du microbiote total au cours d'une infection expérimentale par *V. splendidus* ou encore l'exploration du microbiote des moules (*M. edulis*, *M. galloprovincialis* et hybrides) issues d'une ferme mytilicole affectée par des mortalités. L'exposition à *V. splendidus* a affecté la structure et la fonction prédictive du microbiote des moules. La dysbiose s'est accompagnée de l'apparition d'un pathobiome dominé par les Bacteroidetes et les Fusobacteria. Le prétraitement antibiotique des moules a réduit l'infection par le pathogène et le taux de mortalité et a diminué l'abondance des bactéries opportunistes confirmant leur implication dans la pathogénèse. Par ailleurs, l'analyse du microbiote des moules d'élevage a montré une abondance anormale de protéobactéries, en particulier des genres *Vibrio*, *Cobetia* et *Arcobacter*. Malgré la dysbiose, la moule méditerranéenne présentait un profil de microbiote différent, avec une plus grande richesse et la présence de *Bacteroidetes*. L'injection de moules avec le pathogène *V. splendidus* a induit un taux de mortalité plus faible chez *M. galloprovincialis* que chez les autres *Mytilus sp.*, ce qui suggère une meilleure résistance de la moule méditerranéenne à l'infection. L'ensemble des résultats suggèrent que la maladie des moules résulte d'une collaboration entre les pathogènes externes et les pathobiontes. Une caractérisation des fonctions du microbiote est nécessaire pour mieux comprendre les pathosystèmes.

Mots-Clés: Maladies ; *Vibrio* ; microbiote ; moules marines

Contacts :

Yosra BEN CHEIKH	yosra.ben-cheikh@univ-lehavre.fr
Enora BRIAND	enora.briand@ifremer.fr
Nolwenn CALLAC	nolwenn.callac@ifremer.fr
Maud CARRIER	maud.carrier@nanoporetech.com
Germain CHEVIGNON	germain.chevignon@ifremer.fr
Nicolas CREUSOT	nicolas.creusot@inrae.fr
Hélène CUNY	helena.cuny@univ-brest.fr
Luc DANTAN	luc.dantan@univ-perp.fr
François DELAVAT	francois.delavat@univ-nantes.fr
Léo DUPERRET	leo.duperrret@univ-perp.fr
Sébastien DUPERRON	sebastien.duperron@mnhn.fr
Patrick DURAND	pgdurand@ifremer.fr
Matthieu GARNIER	mgarnier@ifremer.fr
Maude JACQUOT	maude.jacquot@ifremer.fr
Gwenaëlle LE BLAY	gwenaëlle.leblay@univ-brest.fr
Soizic LE GUYADER	soizic.le.guyader@ifremer.fr
Sabrina MACÉ	sabrina.mace@ifremer.fr
Anaïs MASSÉ	anais.masse@mnhn.fr
Catherine MICHEL	catherine.michel@univ-nantes.fr
Delphine PASSERINI	delphine.passerini@ifremer.fr
Valérie PEREZ	perez.valerie.g@gmail.com
Pascal POUPIN	pascal.poupin@univ-lorraine.fr