



Journées conchylicoles Ifremer 2013

23-25 janvier, Roscoff

Livre des résumés



Ifremer

Avant-propos

Les Journées Conchylicoles ont été initialement organisées à l'initiative du Département Ressources Aquacoles (Y. Harache puis A. Gérard). Elles représentaient un point de rencontres important pour la communauté scientifique d'Ifremer travaillant sur des thématiques en lien avec le secteur conchylicole, et un rendez-vous d'information et de discussion pour les personnels (cadre et techniciens) des labos « thématiques » et labos « côtiers » et (parfois) les représentants de la filière conchylicole.

Elles permettaient, à un instant donné, d'avoir une vision inter-laboratoires de l'avancement et de l'orientation des recherches et avaient pour objectif de favoriser une dynamique en interne sur des thématiques diverses.

Quatre manifestations de type "Journées Conchylicoles de 1997 à 2003", une tous les deux ans, ont ainsi été organisées sur le Centre de l'Atlantique à Nantes :

- en 1997 (18 et 19 mars) avec 41 communications.
- en 1999 (24 et 25 mars): avec 44 communications (coordinateur Joseph Mazurié).
- en 2001 (03 et 04 avril): avec 43 communications (coordinateur Philippe Gouletquer).
- en 2003 (12 et 13 mars): avec 43 communications (coordinateur Jean Prou).

Entre 2001-2006, le défi MOREST a structuré ces rencontres autour de la thématique "Mortalités estivales du naissain de *C. gigas*" sur lequel s'étaient regroupées beaucoup des forces vives du Département RA Conchylicole (A. Gérard). Quatre workshops ont ainsi été organisés sur ce thème: à La Rochelle (novembre 2003), à Caen (novembre 2004), à l'Aber Wrach (novembre 2005) et à La Rochelle (mars 2006).

L'extension du fonctionnement horizontal par projets à l'Ifremer depuis 2005 a orienté ces rencontres, dans la droite ligne de MOREST, sur le projet « Surmortalités » avec une réunion annuelle. Quatre rencontres ont eu lieu à Nantes (novembre 2008, décembre 2009, décembre 2010 et novembre 2011). Cette dernière a donné lieu à une restitution des résultats les plus marquants et les plus solides auprès de l'administration et des professionnels à Paris en janvier 2012.

La demande de la communauté scientifique pour réorganiser des journées conchylicoles autour de thématiques couvrant une partie plus importante de nos activités de recherche a été prise en compte par le Département RBE et son organisation et déroulement ont été réalisés par le CSO SBE à la demande de RBE/DIR.

Sur les résumés reçus, 33 communications ont été retenues et ont permis d'organiser cette manifestation à la Station biologique de Roscoff du 23 au 25 janvier 2013. Ces journées ont été structurées en six sessions, animées par l'ensemble des membres du CSO SBE.

Session 1 : Gestion et développement des ressources aquacoles (4 communications).
Animateur : Fabrice Pernet.

Session 2 : Surmortalités, environnement, zootechnie (6 communications). animateurs : Édouard Bédier et Jean-Pierre Baud .

Session 3 : Epidémiologie, Pathogènes et Immunité (9 communications).
Animateur/Animatrices : Tristan Renault, Evelyne Bachère et Frédérique Le Roux.

Session 4 : Génétique et outils « omiques » (4 communications). Animateur : René Robert

Session 5 : Influence des facteurs biotiques et abiotiques du milieu sur la ressource (6 communications). Animateur/Animatrice Jean Claude Cochard et Farida Akcha.

Session 6 : Physiologie de la nutrition et de la reproduction (4 communications).
Animateur : Pierre Boudry.

Cette manifestation a attiré 80 participants avec une bonne représentation des laboratoires RBE et ODE.

Le présent livret des résumés rapporte la teneur des communications et leurs points saillants.

Journées Conchylicoles 2013

Mercredi 23, jeudi 24 et vendredi 25 janvier 2013

Auditorium, Station biologique de Roscoff

MERCREDI 23 JANVIER 2013

9h30 *Accueil des participants-Café et récupération des diaporamas par l'animateur de la session*

23/01/13 Matin	Session 1 : Gestion et développement des ressources aquacoles : Animateur : Fabrice PERNET
10h00	Climat et Conchyliculture : la partie émergée de l'iceberg... Stéphane POUVREAU ¹ , E. Bédier, D. Maurer, E. Fleury, H. Cochet, C. Cassou et toutes les équipes LERs, ¹ LPI Brest
10h30	Déterminisme du recrutement larvaire de l'huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> en lagune méditerranéenne : projets PRONAMED 1 et 2 Frank LAGARDE ¹ , E. Roque d'orbcastel, A. Perignon, S. Mortreux, P. Le Gall, A. Leurion, Chiantella C., Bonnet D., Bec B., Roques C., N. Rayssa, M. Boj, E. Gervasoni, G. Miron, S. Pouvreau, F. Pernet, ¹ LERLR
11h00	Recherche et Expertise pour un développement durable de l'élevage du pétoncle géant (<i>Placopecten magellanicus</i>) dans l'archipel de Saint Pierre et Miquelon (Atlantique N-O, Fr) S. Robert, P. Gouilletquer, Xavier CAISEY , ¹ DYNECO EB Brest
11h30	Projet OGIVE (Outils d'aide à la Gestion Intégrée et à la Valorisation des Ecosystèmes conchylicoles de Basse-Normandie – 2005-2013) : synthèse des acquis Aline GANGNERY ¹ , R. Le Gendre, J. Normand, M. Alunno-Bruscia, C. Bacher, P. Cugier, S. Roudesli, M. Ropert, et toute l'équipe du LERN, ¹ LERN
12h00	Discussion et conclusion générale de la Session 1 : 30 min

12h30-14h00 *Déjeuner (restaurant de la station de Roscoff)*

23/01/13	Session 2 : Surmortalités, Environnement, Zootechnie :
Après midi	Animateurs : Edouard BEDIER et Jean-Pierre BAUD
14h00	Analyses des données de surmortalités acquises par le réseau RESCO Elodie FLEURY ¹ , A. Jolivel, J. Normand, E. Talarmain, E. Bédier, ¹LER MPL
14h30	Mortalités massives d’huîtres <i>Crassostrea gigas</i> en baie de Quiberon : la piste hypoxique Jean Yves STANISIERE ¹ , P. Cugier, F. Dumas, G. Charria, F. Gohin, J-F. Bouget, A. Langlade, M. Retho, R. Gabellec, J. Mazurié, ¹LER MPL
15h00	Plan de sauvegarde année 2011, résultats et perspectives pour l’année 2012 A. Benabdelmouna, H. Chavanne, L. Dégremont C. Yonneau, E. Maurouard, D. Heroin, C. Ledu, Raphaël BRIZARD, ¹LGP La Tremblade
15h30	<i>Break café</i>
16h00	Rôle des facteurs énergétiques et trophiques dans la dynamique spatio-temporelle des mortalités d’huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> Fabrice PERNET ¹ , F. Lagarde, N. Jeannee, J. Barret, P. Le Gall, C. Quéré, E. Roque D’Orbecastel, ¹LPI Brest
16h30	Synthèse des expériences menées sur le déterminisme des mortalités d’huîtres creuses <i>Crassostrea gigas</i> à Argenton et déclinaison sur le terrain Bruno PETTON ¹ , I. Quéau, P. Le Souchu, C. Mingant, L. Lebrun, R. Robert, F. Pernet, ¹LPI Brest
17h00	Etude des populations bactériennes associées aux élevages larvaires de <i>Crassostrea gigas</i> en système d’eau recyclée Katia ASMANI ¹ , B. Petton, C. Mercier, J. Le Grand, R. Robert, J.L Nicolas, ¹LPI Brest
17h30* HS2= S5	Feeding behaviour and azaspiracid accumulation of <i>Mytilus edulis</i> exposed to <i>Azadinium spinosum</i> Philipp HESS ¹ , T. Jauffrais, V. Séchet, ¹LEMP/PHYC Nantes
18h00	Discussion et conclusion générale de la Session 2 : 30 min

*Cette communication correspond à la session 5 « Influence des facteurs biotiques et abiotiques du milieu sur la ressource » mais ne pouvait pas être présentée comme initialement programmée

8h45 *Récupération des diaporamas par les animateur/trice de la session*

24/01/13	Session 3 : Epidémiologie, Pathogènes, Immunité :
Matin	Animateur/trice: Tristan RENAULT et Evelyne BACHERE
9h00	Perspectives de la surveillance épidémiologique en santé des coquillages marins à l'Ifremer. Coralie LUPO ¹, C. François, ¹LGP La Tremblade
9h30	<i>Vibrio splendidus</i> et mortalité d'huîtres creuses: tester l'hypothèse d'un partage des armes Typhaine VERSIGNY ¹, B. Petton, D. Goudenège, F. Le Roux, ¹UPMC (GV), Roscoff
10h00	Mortalités d'huîtres adultes associées à <i>V. aestuarianus</i>: émergence d'un nouveau génotype bactérien ? Marie Agnès TRAVERS ¹, J.L. Nicolas, C. François, P. Haffner, D. Tourbiez, J. Le Grand, C. Garcia, C. Lupo, T. Renault, ¹LGP La Tremblade
10h30	Break café
11h00	Spécificité de la réponse antimicrobienne chez <i>Crassostrea gigas</i> : mécanismes moléculaires de reconnaissance et de signalisation T. Green, J. de Lorgeril, Caroline MONTAGNANI ¹, ¹ECOSYM Montpellier
11h30	Analyse de la diversité de différents échantillons d'OsHV-1 d'origines géographiques diverses sur la base de séquences de trois régions spécifiques du génome Valérie BARBOSA-SOLOMIEU ¹, N. Faury, A. Joyce, D. Cheslett, S. Webb, T. Renault, ¹LGP La Tremblade
12h00	Etude <i>in vivo</i> de la cinétique d'expression des gènes viraux et cellulaires au cours de l'infection à OsHV-1 chez le naissain d'huître creuse, <i>Crassostrea gigas</i> Amélie SEGARRA ¹, N. Faury, P. Haffner, F. Mauduit, P. Moreau, J.F. Pépin, D. Tourbiez, S. Trancard, A. Travers, T. Renault, ¹LGP La Tremblade

12h30-14h00 *Déjeuner (restaurant de la station de Roscoff)*

24/01/13 Après midi	Session 3 : Epidémiologie, Pathogènes, Immunité (Suite) Animatrice : Frédérique LE ROUX
14h00	Un point sur le projet BIVALIFE - Management of infectious diseases in oysters and mussels in Europe Tristan RENAULT¹ , I. Arzul, V. Barbosa-Solomieu, R. Brizard, L. Degremont, N. Faury, P. Haffner, J. Haure, A. Layec, M. Nourry, M. Papin, J.-F. Pepin, A. Segarra, S. Trancart, M.-A. Travers, D. Tourbiez, ¹LGP La Tremblade
14h30	Une approche intégrée pour mieux comprendre le cycle du protozoaire parasite <i>Marteilia refringens</i> Bruno CHOLLET¹ , I. Arzul, S. Boyer, D. Bonnet, J. Gaillard, J.-P. Herbourg, Y. Baldi, S. Lerond, M. Robert, Y. Couraleau, J.P. Joly, C. Garcia, M. Bouchoucha, ¹LGP La Tremblade
15h00	Interactions entre Oe-Gal (<i>Ostrea edulis</i> Galectin) et le parasite protozoaire <i>Bonamia ostreae</i> M. Prado-Alvarez, B. Chollet, N. Faury, M. Robert, B. Morga, D. J. Ibara, C. Lupo, T. Renault, I. ARZUL¹ , ¹LGP La Tremblade
15h30	<i>Break café</i>
	Session 4 : Génétique, Outils omiques Animateur : René ROBERT
16h00	Les modifications qualitatives et quantitatives de la ploïdie, utilisation et potentialités pour l'amélioration et l'étude des génomes des huîtres creuses Abdellah BENABDELMOUNA¹ , E. Maurouard, C. Ledu, ¹LGP La Tremblade
16h30	Histoire et composante adaptative de l'invasion de l'huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> en Europe : apports de la génomique des populations. A. Rohfritsch, R. Sussarellu, N. Bierne, A. Huvet, F. Pernet, S. Heurtebise, F. Cornette, V. Quillien, L. Fast Jensen, Pierre BOUDRY¹ , S. Lapègue, ¹LPI Brest
17h00	Développement d'outils de génétique et génomique pour l'étude des huîtres plates et creuses S. LAPEGUE¹ , S. Heurtebise, F. Cornette, E. Harrang, E. Flahauw, R. Li, B. Morga, A. Rohfritsch, L. Degremont, P. Haffray, N. Bierne, P.A. Gagnaire, P. Boudry, ¹LGP La Tremblade
17h30	La protéomique chez <i>Crassostrea gigas</i> à l'heure du génome. Charlotte CORPOREAU¹ , E. Guévelou, C. Quéré, C. Séguineau, B. Petton, J. Normand, J.L. Nicolas, M. Boulais, M. Suquet, G. Vanderplancke, S. Madec, A. Huvet, P. Boudry, Y. Epelboin, V. Pichereau, M. Lagarrigue, E. Com, A. Groisillier, M. Czjzek, ¹LPI Brest
18h00	Discussion et conclusion générale des Sessions 3 et 4 : 60 min

8h45 Récupération des diaporamas par les animateurs de la session

25/01/13 Matin	<p>Session 5 : Influence des facteurs biotiques et abiotiques du milieu sur la ressource :</p> <p>Animateur/trice Jean Claude COCHARD et Farida AKCHA</p>
8h30	<p>Projet Interreg MICRO Les microplastics : sont-ils une menace pour la zone des 2 Mers?</p> <p>Rossana SUSSARELLU ¹, P. Soudant, C. Fabioux, H. Hégaret, N. Le Goïc, C. Lambert, M. Long, JY Daniel, V Quillien, C. Quéré, Y. Epelboin, C. Mingant, B. Petton, D. Baud, I. Quéau, P. Le Souchu, P. Miner, E. Desbruyeres, C. Huelvan, H. Le Delliou, M.M. Le Gall, A. Severe, D.Mazurais, J. Zambonino, S. Pouvreau, R. Robert, C. Corporeau, P. Boudry, A. Huvet, ¹LPI Brest</p>
9h00	<p>Étude chez l'huître creuse des anomalies génomiques provoquées par l'exposition à des concentrations environnementales de diuron</p> <p>Audrey BARRANGER ¹, J. Rouxel, R. Brizard, E. Maurouard, C. Yonneau, D. Menard, J. Potier, T. Burgeot, A. Benabdelmouna, F. Akcha, ¹LGP La Tremblade</p>
9h30	<p>Effets sur l'huître juvénile <i>Crassostrea gigas</i>, d'une exposition couplée à un dinoflagellé toxique <i>Alexandrium catenella</i> et à des huîtres présumées porteuses de l'herpès virus</p> <p>Malwenn LASSUDRIE ¹, H. Hégaret, P. Miner, C. Lambert, J. Le Grand, P. Soudant, C. Fabioux, N. Le Goïc, B. Petton, J.L. Nicolas, ¹LPI Brest</p>
10h00	<i>Break café</i>
10h30	<p>Effets de l'algue toxique <i>Alexandrium catenella</i> sur le système de défense de l'huître creuse <i>Crassostrea gigas</i></p> <p>W. Medhioub, M. Duchiron, E. Masseret, V.Savar, Z. Amzil, M., Laabir, Jean Luc ROLLAND ¹, ¹ECOSYM Montpellier</p>
11h00	<p>Réponse physiologique et activation de la voie du glutathion de l'huître <i>Crassostrea gigas</i> en réponse à une exposition au dinoflagellé toxique <i>Alexandrium minutum</i></p> <p>Caroline FABIoux ¹, Y. Sulistiyani, H. Haberkorn, H. Hégaret, N. Le Goïc, C. Lambert, P. Soudant, ¹LEMAR - UMR 6539</p>
11h30	Discussion et conclusion générale de la Session 5 : 30 min

12h30-13h30 Déjeuner (restaurant de la station de Roscoff)

25/01/13	Session 6 : Physiologie de la nutrition et de la reproduction :
Après midi	Animateur : Pierre BOUDRY
13h30	Les besoins nutritionnels des larves de <i>C. gigas</i> : pour qui somme le gras ? Fiz DA COSTA ¹ , B. Petton, G. Bougaran, J.P. Cadoret, C. Quéré, P. Soudant, R. Robert, ¹LPI Brest
14h00	A molecular approach to identify and quantify algal preys of bivalves Marianne ALUNNO-BRUSCIA ¹ , K. Sandnes Skaar, V. Tronci, T. Magnesen, Ø. Strand, A. Huvet, C. Troedsson, ¹LPI Brest
14h30	Caractéristiques biologiques du sperme d'huître creuse (<i>Crassostrea gigas</i>) et relation avec son pouvoir fécondant Myrina BOULAIS ¹ , N. Le Goïc, M. Suquet, C. Quéré, P. Boudry, F. Pernet, P. Soudant, ¹LPI Brest
15h00	Suivi temporel de la gamétogenèse de l'huître creuse, <i>Crassostrea gigas</i>, par IRM et détection de régions du génome (QTLs) impliquées dans l'effort de reproduction Emilie FLAHAUW ¹ , A. Davenel, S. Quellec, P.J. Hatt, V. Quilien, A. Huvet, S. Lapegue, ¹LGP La Tremblade
15h30	Discussion et conclusion générale de la Session 6 : 30 min

16h00 Fin des journées conchyloles 2013

Gestion et développement des ressources aquacoles

Climat et Conchyliculture : la partie émergée de l'iceberg...

S. Pouvreau¹, E. Bédier², D. Maurer³, E. Fleury², H. Cochet⁴, C. Cassou⁴ et toutes les équipes LERs,

¹ Ifremer UMR 6539 LEMAR, RBE-PFOM-PI, Plouzané,

² Ifremer LER MPL, station de la Trinité sur mer, 12 rue des Résistants, 56470 La Trinité sur mer

³ Ifremer LER ARC, quai du commandant Silhouette, 33120 Arcachon

⁴ Cochet Environnement

« Quand les châtaigniers sont en fleurs, ostréiculteur ! Pose tes collecteurs. » Le lien entre la conchyliculture et « le temps qu'il fait » est dans l'esprit de tous les professionnels. Mais qu'en est-il vraiment ? Est-on en mesure de démontrer ce lien de façon statistique ? Certes, l'impact du changement climatique sur les écosystèmes côtiers est devenu en moins de vingt ans une question clé en écologie marine. Ainsi, un nombre croissant d'études témoigne de l'effet du climat sur les traits de vie de nombreux organismes marins (*e.g.* Philippart et al, 2003 ; Parmesan et al, 2006). C'est dans ce contexte que la présente étude se propose d'illustrer, en partie, les relations qu'il peut y avoir entre climat et conchyliculture au travers de trois exemples clés.

A partir des années 2007-2008, un sévère épisode de mortalités touche les élevages d'huîtres creuses en France. Bien que sans précédent par son ampleur, ce nouvel épisode rappelle néanmoins les fortes vagues de mortalités déjà enregistrées chez cette espèce par le passé, notamment celles des années 1994-1995 mais aussi 1999-2000. Or sur le plan climatologique, toutes ces années ont un point commun : elles sont dominées en

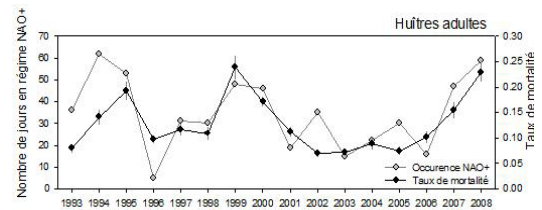


Figure 1 : Occurrence hivernale du régime NAO+ (nombre de jours) et taux de mortalités de l'huître creuse au stade adulte mesuré sur 43 sites en France de 1993 à 2008 (moyenne nationale annuelle)

hiver par un régime NAO+, régime responsable à nos latitudes d'un temps plus doux, plus humide et plus venteux que la normale (*e.g.* Cassou 2004). Ce présent travail analyse, à partir des données du Réseau Remora, cette éventuelle première relation (Figure 1) et en montre les limites.

La dernière décennie a été la plus chaude des cent dernières années dans l'hémisphère nord et l'augmentation de la température devrait se poursuivre au même rythme dans les prochaines décennies. Dans l'état actuel des connaissances sur la biologie de l'huître creuse, cette augmentation de la température devrait être plutôt favorable à la reproduction chez cette espèce, mais il en va tout autrement comme en témoignent les mauvaises performances de recrutement enregistrées ces dernières années dans le Bassin d'Arcachon. Nous montrons ici, à partir des données du réseau Velyger, pourquoi réchauffement et recrutement ne sont pas toujours synonymes et pourquoi les liens sont bien évidemment plus complexes qu'ils ne paraissent.

L'huître plate est une espèce emblématique en Bretagne, mais son recrutement reste très variable. Une analyse récente de séries temporelles s'appuyant sur 35 ans de données régionales a montré qu'une partie de son cycle de reproduction était là aussi sous la dépendance du régime climatique hivernal NAO+. Nous montrons, ici, que ce régime plus fréquent depuis deux décennies en Europe du Nord et de l'Ouest, s'accompagne, en Baie de Quiberon, d'anomalies positives de températures et de précipitations hivernales : ces conditions font que les pontes printanières apparaissent alors plus tôt dans la saison, avec des conséquences sur le recrutement qu'il convient encore d'approfondir.

Si ces trois exemples illustrent, en partie, la dépendance de la filière ostréicole au climat, il nous montre surtout la nécessité de pouvoir disposer de séries biologiques de long terme pour aborder de telle problématique. Le fait que ces séries soient rares limite complètement notre perception actuelle de l'effet du climat en écologie marine et nous masque probablement la plupart des tendances en cours et à venir.

Déterminisme du recrutement larvaire de l'huître creuse *Crassostrea gigas* en lagune méditerranéenne : projets PRONAMED 1 et 2

F. Lagarde¹, E. Roque d'orbcastel¹, A. Perignon³, S. Mortreux¹, P. Le Gall¹, A. Leurion¹, C. Chiantella¹, D. Bonnet⁶, B. Bec⁶, C. Roques⁶, N. Rayssac³, M. Boj¹, E. Gervasoni⁴, G. Miron⁵, S. Pouvreau², F. Pernet²

¹ Ifremer LERLR, Boulevard Jean Monnet, 34203 Sète Cedex

² Ifremer PFOM, Centre de Brest, 29280 Plouzané

³ Comité Régional de La Conchyliculture en Méditerranée, 34140 Mèze

⁴ Cedralmar, Stratégie Concept Bât. 1 1300, avenue Albert Einstein 34000 Montpellier

⁵ Département de biologie, Université de Moncton, 18, avenue Antonine-Maillet - Moncton, NB Canada E1A 3E9

⁶ UMR 5119, Ecologie des Systèmes Marins Côtiers, UM2, Place Eugene Bataillon. 34095 MONTPELLIER

Contrairement aux autres bassins producteurs de la façade atlantique, le Bassin méditerranéen n'a jamais exploité la possibilité de captage naturel d'huîtres creuses. Les très fortes mortalités de naissain constatées depuis plusieurs années et l'augmentation du coût du naissain amènent aujourd'hui les producteurs à envisager une autoproduction de naissain. Le projet PRONAMED¹ (2010-2011) initié par le CRCM en partenariat avec le Cedralmar et l'Ifremer dans le cadre du réseau national Velyger² a montré que l'intensité de captage sur la lagune de Thau est variable d'une année sur l'autre mais que le potentiel existe selon les années. De plus, le naissain survivant capté semble mieux résister au phénomène de surmortalité de l'année suivante : à titre d'exemple, les naissains captés dans la lagune de Thau en 2010 présentent une bonne résistance aux mortalités avec des taux de survie de 62 à 78% en septembre 2011.

La variabilité interannuelle du recrutement des huîtres est maintenant analysée, chaque année, dans les écosystèmes atlantiques de production, notamment dans le cadre du réseau national Velyger mais aussi par des études spécifiques régionales. Néanmoins, les facteurs écologiques contrôlant le recrutement de *C. gigas* en milieu lagunaire méditerranéen sont vraisemblablement spécifiques et leurs rôles respectifs doivent être définis. Pour cela, le contexte environnemental doit être évalué pour chaque année d'étude afin de caractériser l'habitat lagunaire de chaque cycle potentiel de production. Ainsi les conditions lagunaires seront opposées aux facteurs connus de la niche écologique de *Crassostrea gigas*. Les éventuels points de blocages du cycle de reproduction de cette espèce en lagune pourront alors être mis en évidence.

A ce titre, une revue de la stratégie de reproduction (gamétogénèse, synchronisme des pontes, qualité et quantité des gamètes) et du développement des cohortes (en lien avec les fluctuations environnementales) des années étudiées dans la lagune de Thau est proposée. En 2012, un élargissement du suivi du captage naturel à l'échelle de la lagune (dans les zones conchylicoles et hors des zones conchylicoles) permet de détecter des zones sous influence de la dispersion larvaire avec un effet positif relatif sur le captage naturel. En outre, des mécanismes post-fixation (compétition pour l'espace, survie après métamorphose) sont étudiés.

Le projet régional PRONAMED 2 (2013-2015) a pour objectif d'avancer, en relation avec le réseau Velyger, dans la compréhension des facteurs déterminant le recrutement larvaire de l'huître creuse en milieu lagunaire. L'analyse globale de l'effet des facteurs environnementaux sur le recrutement sera poursuivie dans les conditions environnementales de la lagune de Thau. Une analyse de la dynamique de dispersion et de la connectivité larvaire sera proposée en s'appuyant sur le modèle MARS-3D Thau. L'approche « pratique culturelle » autour de cette nouvelle activité en Méditerranée sera abordée pour proposer des voies d'optimisation de la gestion des collecteurs. La mise en place d'outils 'pronostic' pourra être envisagée pour appuyer le CRCM dans la rationalisation du captage naturel en milieu lagunaire.

¹ Projet PROduction de NAissains d'huîtres creuses en MEDditerranée, <http://archimer.ifremer.fr/doc/00088/19959/17626.pdf>

² <http://wwz.ifremer.fr/velyger>

Recherche et expertise pour un développement durable de l'élevage du pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*) dans l'archipel de Saint Pierre et Miquelon (Atlantique N-O, Fr)

S. Robert¹, P. Gouletquer², X. Caisey³

¹ Ifremer LERPC, Avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade

² Ifremer DS, rue de l'Île d'Yeu, BP 2110544311 Nantes Cedex 03

³ Ifremer DYNECO/EB, BP. 70, 29280 Plouzané

La délimitation de la ZEE de l'archipel de Saint Pierre et Miquelon et le moratoire canadien sur l'arrêt de la pêche à la morue en 1992 ont donné un coup de frein brutal à l'économie de la pêche de ce territoire septentrional. C'est dans un contexte de relance du secteur halieutique que s'est développé le projet d'aquaculture du pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*). Initié par l'ISTPM en 1978 (Dupouy, 1983), c'est en 1998 que le projet est réactivé sous l'égide de l'ARDA¹ pour être transféré au domaine privé (EDC²) dès 2001. L'expertise d'IFREMER (Dao, 2005, 2006) alors que l'entreprise connaît des difficultés systémiques, souligne l'absence d'assistance scientifique et conseille une modulation des objectifs de développement de cette entreprise. Un programme sectoriel portant sur le développement durable d'une activité en pectiniculture est initié dès 2007 entre l'ODEADOM, l'IFREMER et l'ARDA. La mise en place d'une R & D avec le soutien d'un ingénieur positionné sur l'archipel et l'accompagnement du projet depuis la métropole permet d'orienter localement les choix stratégiques en techniques d'élevage (matériel, densité, site, etc...) et de développer un accompagnement scientifique et technique spécifique et intégré depuis la métropole : conditions environnementales, modèle de courantologie, cartographie des fonds, techniques de vidéo-observation/surveillance, instrumentations, techniques de pêche, évaluation de l'impact de la pêche et impact génétique, échanges techniques par des professionnels en aquaculture. L'environnement hydrologique de l'Atlantique Nord-Ouest présente des conditions stressantes. Au cours d'une année (2010), les températures évoluent entre 1 et 18°C en surface et 1 à 8°C par 80m de fond. La présence d'une thermocline (entre 10 et 30m) et des variations thermiques très importantes en période estivale (10°C jour) peuvent stresser les cheptels et affecter la croissance des coquilles (métrologie LERPC). Il en est de même pour la chlorophylle dont la concentration peut varier d'un facteur 3 à 10 (missions Ifremer 2009, 2012) entre les eaux de subsurface et celles du fond (0,1 à 2,6 µg l⁻¹). Deux stratégies d'élevage sont actuellement identifiées : l'élevage sur filières suspendues et le semis de coquille prégrossies (30mm). Le cycle d'élevage du pétoncle géant commence par un captage en octobre (année N) suivi d'une récolte en avril (archipel) ou octobre (Canada) (année N+1). Les naissains, importés du Canada (2,5 à 6 millions par an) sont depuis 2 ans captés en quantité importante en rade de Miquelon (6 à 7 millions) sur des zones pré-sélectionnées à partir de la modélisation hydrodynamique (Seamer, 2006, Safege, 2008, Safege 2009) et à une profondeur définie (ARDA, 2008, 2009, 2010, 2011). La technique d'élevage permet d'éliminer les pétoncles islandais (*Chlamys islandica*), coquillages compétiteurs et 3 à 4 fois plus nombreux sur les structures de captage. Un pré-grossissement sur filière permet une croissance des coquilles de 10 à 30mm, (survie 60 à 80%). Les pétoncles sont alors triés pour être : 1- élevés en lanterne sur filières (N+3) sur des sites où les salissures se développent peu (survie 45 à 60%), ou 2- semés sur les zones concédées, choisies à partir de la cartographie des fonds (Envision campagne 2006 et 2011) en baie de Miquelon et par 40 à 70m de fond (N+5) (survie 7 à 15%).

L'utilisation d'une drague à volet pour la pêche des semis a fait l'objet d'un transfert de technologie entre professionnels métropolitain et saint pierrais et miquelonais en 2011. Elle s'est concrétisée par l'exploitation des deux zones concédées en 2011 (52t) et en 2012 (56t). La survie des semis est contrôlée par vidéo localisation depuis 2008 (adaptation technique de DYNECO Benthos), les données obtenues étant validées à terme par les résultats de pêche (Robert, 2011).

L'impact environnemental de ce projet a été suivi 1- à travers la caractérisation génétique des populations locale et importée (Guénolet, 2010) : aucune différence significative n'est observée, y compris dans les naissains captés. 2- l'impact résiduel sur la biodiversité locale suite au passage de drague (Dubois, 2011) : la composition faunistique des peuplements des sables fins de la baie de Miquelon ne présente pas de diminution des indices de diversité suite aux activités de pêche. Des résultats complémentaires sont nécessaires au niveau des espèces rares, faiblement représentées ou peu accessibles dans les échantillonnages.

L'implication de la collectivité territoriale dans la mise en place des semis (depuis 2006), le contrôle régulier par un comité de pilotage mixte (administrations, élus, scientifiques, privés) accompagne ce projet qui fait vivre 20 familles sur une île qui compte 600 habitants.

¹ ARDA : Association pour la R & D de l'Aquaculture dans l'archipel de Saint Pierre et Miquelon

² EDC : Elevage de coquille (entreprise privée)

Projet OGIVE (Outils d'aide à la Gestion Intégrée et à la Valorisation des Ecosystèmes conchylicoles de Basse-Normandie – 2005-2013) : synthèse des acquis

A. Gangnery¹, R. Le Gendre¹, J. Normand¹, M. Alunno-Bruscia², C. Bacher³, P. Cugier⁴, S. Roudesli¹, M. Ropert⁵, et toute l'équipe du LERN

¹ Ifremer LERN, Avenue du Général de Gaulle, 14520 Port en Bessin

² Ifremer LPI, Station Expérimentale d'Argenton, 11 Presqu'île du Vivier, 29840 Argenton en Landunvez

³ Ifremer DS, Centre Bretagne, BP 70, 29280 Plouzané

⁴ Ifremer DYNECO-EB, Centre Bretagne, BP 70, 29280 Plouzané

⁵ Ifremer Délégation de La Réunion, Rue Jean Bertho, 97822 Le Port

La conchyliculture bas-normande représente un usage important du littoral puisque les surfaces ostréicoles couvrent environ 1 000 ha et le linéaire de bouchots atteint 300 km. Par ailleurs, l'activité est déployée sur quatre écosystèmes dont les fonctionnements sont très différents : la côte ouest du Cotentin, largement ouverte sur la Manche, la côte est du Cotentin, sous l'influence prépondérante de la baie de Seine, la baie des Veys, milieu estuarien fortement influencé par les apports de quatre rivières et Meuvaines, petit secteur localisé le long des côtes du Calvados au cœur de la baie de Seine.

Le projet OGIVE a été développé par le Laboratoire Environnement Ressources de Normandie afin de répondre à 2 missions : 1) mieux comprendre le fonctionnement de son littoral en lien avec la conchyliculture et 2) fournir une aide à la gestion de ce littoral à destination des services de l'Etat et des professionnels. Les objectifs du projet sont donc au nombre de quatre : i) développer des expérimentations *in situ* permettant d'acquérir des connaissances sur les interactions entre les filtreurs d'élevage et leur environnement, ii) transférer et partager ces connaissances avec les partenaires du projet, iii) les utiliser pour développer des outils d'aide à la gestion des zones conchylicoles et iv) utiliser ces outils pour étayer les avis et expertises produits par le laboratoire. Le cadre utilisé repose sur les concepts d'approche écosystémique et de planification spatiale marine.

L'acquisition de connaissances a porté de manière prépondérante sur l'étude de la variabilité spatiale de la productivité biologique des écosystèmes conchylicoles basée sur le développement de protocoles originaux (Fig. 1 & 2). Cette étape a conduit à produire une information cartographique de nature variée qui a été partagée *via* la création d'un portail web hébergé par Sextant©, le serveur de données géoréférencées de l'Ifremer. Les outils développés reposent principalement sur l'utilisation des systèmes d'information géographique et la construction de chaînes couplées de modèles numériques (hydrodynamique, biogéochimie, écophysiologie et dynamique de population des filtreurs) permettant de simuler le fonctionnement des écosystèmes. Ils sont utilisés pour étudier la capacité de support des écosystèmes et, entre autres, fournir des recommandations en termes de biomasses à mettre en élevage (Fig. 3).

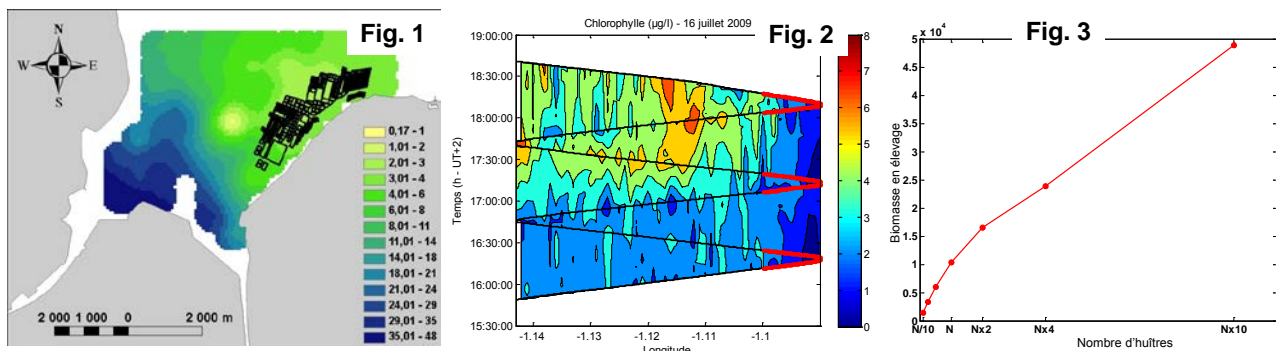


Fig. 1 : Cartographie de la concentration en chlorophylle *a* mesurée en baie des Veys au printemps 2007.

Fig. 2 : Evolution spatio-temporelle de la concentration en chlorophylle *a* mesurée le long d'un transect en baie des Veys en été 2009.

Fig. 3 : Relation entre la biomasse et le nombre d'huîtres cultivées en baie des Veys simulée à l'aide d'un modèle d'écosystème.

Analyses des données de surmortalités acquises par le réseau RESCO

E. Fleury¹, A. Jolivel¹, J. Normand², E. Talarmain³, E. Bédier¹

¹ Ifremer LER MPL, station de la Trinité sur mer, 12 rue des Résistants, 56470 La Trinité sur mer

² Ifremer LER FBN, station de Port en Bessin, Avenue du Général de Gaulle, 14520 Port-en-Bessin-Huppain

³ Ifremer LPI, Station Expérimentale d'Argenton, 11 Presqu'île du Vivier, 29840 Argenton en Landunvez

Depuis 2008, la filière ostréicole française doit faire face à des surmortalités exceptionnelles affectant les naissains d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*. Elles sont aujourd'hui comprises entre 60 et 80% sur l'ensemble des bassins du littoral français. Face à l'évolution constante de ce phénomène, il est apparu indispensable de pouvoir disposer de séries temporelles relatives à la survie et à la croissance des huîtres en élevage dans différents bassins conchylicoles, mais aussi des paramètres environnementaux qui leur sont associés. Pour cela, l'Ifremer met en œuvre depuis 2009, un réseau d'observations conchylicoles (RESCO) afin d'acquérir, de façon standardisée, ces différents paramètres biologiques et environnementaux (http://wwz.ifremer.fr/observatoire_conchylicole).

La compilation du jeu de données acquis par le réseau RESCO entre 2009 et 2011, complété par les données acquises par d'autres réseaux (REPHY, VELYGER ou REPAMO) a permis la création d'une base de données rassemblant l'ensemble des informations biologiques et environnementales disponibles sur la période étudiée, pour l'ensemble des 13 sites-ateliers du réseau (figure 1). A partir de cela, plusieurs analyses statistiques ont permis de caractériser les cinétiques de mortalité, et de mettre en évidence des différences significatives sur les dynamiques spatio-temporelles des mortalités. De plus, l'analyse des probabilités de mortalité en lien avec les températures mesurées en temps continu sur les différents sites a permis de mettre en évidence une influence significative de la moyenne et de la variance de ce paramètre sur les taux de mortalité (figure 2). En effet, l'analyse semble démontrer qu'une forte variation de température pourrait fortement influencer le risque d'apparition des mortalités, et ce, même pour un seuil de température inférieur à 16°C. Enfin, un modèle statistique de Cox a été appliqué afin d'exprimer le risque instantané de survenue de mortalité en fonction des variables qualitatives et quantitatives acquises par les différents réseaux. Une procédure de sélection descendante de variables a alors été appliquée, afin de construire un modèle retenant les facteurs les plus explicatifs de la probabilité de mortalité.



Fig. 1. Sites-atelier RESCO : suivis biologiques et environnementaux

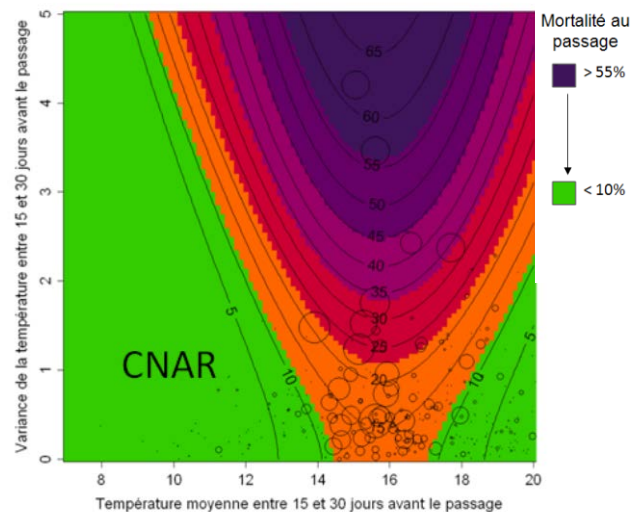


Fig. 2. Cartographie des températures 'à risques' pour l'apparition des mortalités

Mortalités massives d'huîtres *Crassostrea gigas* en baie de Quiberon : la piste hypoxique

J.-Y. Stanisière¹, P. Cugier², F. Dumas², G. Charria², F. Gohin², J.-F. Bouget¹, A. Langlade¹, M. Retho¹, R. Gabellec¹, J. Mazurié¹

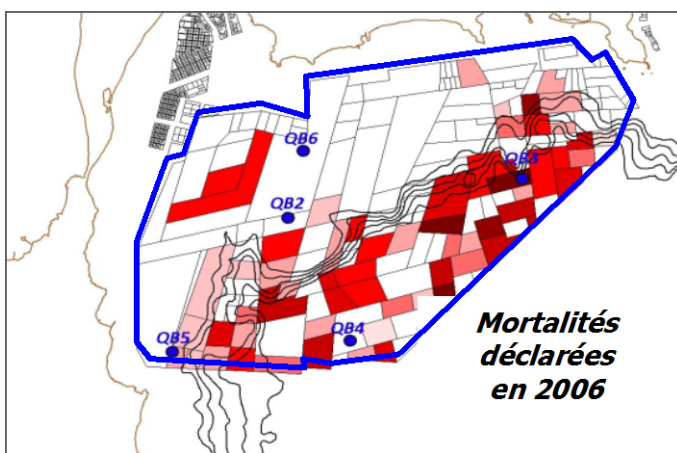
¹ Ifremer, LERMPL BP 86, 56470 La Trinité-sur-mer

² Ifremer DYNECO, BP 70, 29280 Plouzané

Dans la baie de Quiberon, *Crassostrea gigas* est cultivée au sol, en secteur subtidal. La production annuelle avant 2006 avoisinait 15 000 tonnes sur les 3000 ha concédés. En fin d'été 2006, des mortalités massives ont été rapportées, touchant toutes les classes d'âge ; ces mortalités étaient situées essentiellement dans le secteur le plus profond et envasé, selon un gradient croissant d'ouest en est (figure 1).

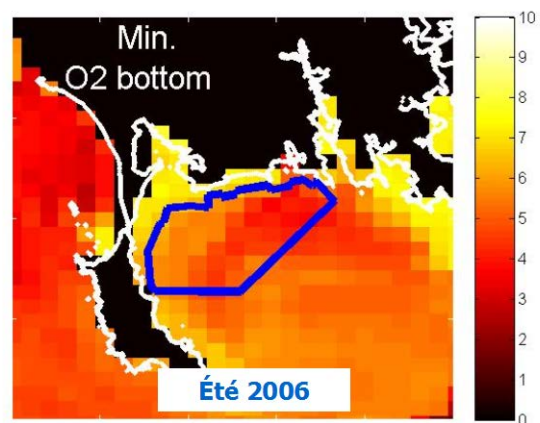
Une revue des paramètres hydro-climatiques à l'échelle interannuelle, saisonnière et spatiale a révélé que l'année 2006 présentait en été des conditions favorables à l'hypoxie : température de l'eau élevée et vents faibles. Un modèle biogéochimique a alors été appliqué en vue de simuler l'évolution et la répartition spatiale de la teneur en oxygène dissous sur la période 2000-2006. Ce modèle a mis en évidence que l'année 2006 affichait bien les teneurs en oxygène dissous les plus faibles depuis l'année 2000 avec trois épisodes hypoxiques (moins de 4 mg l⁻¹) entre juillet et septembre. En outre, la répartition spatiale de ces hypoxies simulées coïncidait parfaitement avec celle des mortalités (figure 1 et 2). Suite à ces mortalités beaucoup d'ostréiculteurs ont cessé d'exploiter leur concession dans la zone la plus profonde. L'étude expérimentale menée en 2010 a montré que ce désengagement a induit une colonisation importante par les prédateurs (bigorneaux perceurs et étoiles de mer). Par ailleurs, dans ces secteurs hypoxiques, une croissance ralentie a également été mesurée en 2010 malgré une forte concentration en chlorophylle. Il est donc possible que l'oxygène agisse aussi comme un facteur de contrôle de la croissance. Ce lien supposé entre hypoxie et déficit de croissance va être testé en confrontant, à l'échelle spatiale et temporelle, les anomalies de croissance mesurée en 2010 aux teneurs simulées en oxygène.

Les conditions hydro-climatiques seules sont donc susceptibles d'affecter la teneur en oxygène dissous au fond, même dans les zones côtières non typiquement eutrophes, avec des conséquences sur les rendements conchylicoles et plus largement sur les peuplements benthiques. Cette étude va permettre une analyse plus fine des risques encourus par la conchyliculture, en fonction des facteurs naturels (météo, sédiments, morphologie côtière) et anthropiques (niveau et répartition des stocks).



Source : CRC Bretagne Sud & Sobaie

Fig. 1. répartition des mortalités d'huîtres en 2006



Source P. Cugier : modèle Mars3D (2000-06)

Fig. 2. teneurs minimales en oxygène simulées en 2006

Plan de sauvegarde année 2011, résultats et perspectives pour l'année 2012

A. Benabdelmouna, H. Chavanne, L. Dégremont C. Yonneau, E. Maurouard, D. Heroïn, C. Ledu, **R. Brizard**

Ifremer LGP, Avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade

Afin de permettre l'approvisionnement partiel des établissements ostréicoles en naissain « à survie améliorée » et, dans l'attente des familles sélectionnées issues des divers programmes de sélection en cours ou à venir, un protocole d'approvisionnement partiel de sauvegarde (PSI) a été mis en place en 2010 entre le CNC, les CRCs, les éclosoirs et l'Ifremer afin de fournir aux ostréiculteurs du naissain présentant les meilleures chances de survie face aux mortalités estivales. Il avait ainsi été décidé que des écloseries privées produiraient du naissain triploïde « à survie améliorée » en 2010 à partir de géniteurs, femelles diploïdes et mâles tétraploïdes, sélectionnés et fournis par Ifremer. Sur la base notamment des recommandations des Assises de la Conchyliculture, l'opération a été reconduite en 2011 (PSII) et 2012 (PSIII).

Suite aux productions réalisées par les écloseries privées en 2011 et dans le cadre du protocole d'accord du PSII, le suivi des performances de survie de ces lots a été réalisé en 2012 par le Laboratoire de Génétique et Pathologie (LGP) de la station IFREMER de La Tremblade. Ainsi, les écloseries participant au plan et ayant réussi à produire au moins un lot triploïde issus des géniteurs sélectionnés, nommé ensuite Eclo - 3nR, ont fourni un échantillon d'environ 1000 huîtres par lot de taille 4-6 mm au LGP. Les écloseries ont également fourni des lots témoins diploïdes (Eclo - 2n) et triploïdes (Eclo - 3n) de leurs productions afin de comparer la survie de ces animaux aux 3nR. Des lots produits par l'écloserie du LGP en 2011, dont l'intégralité du parcours zootechnique est connue, ont également été suivis en 2012. Ces lots ont été produits soit à partir d'huîtres échantillonnées sur des bancs sauvages dans le bassin de Marennes-Oléron (LGP - 2n), soit à partir d'huîtres sélectionnées après deux générations de sélection massale pour l'amélioration de la survie au stade naissain (LGP - 2nR). Afin de s'assurer de l'apparenté des lots 3nR produits dans le cadre de cette campagne PSII, des analyses de pedigree ont été réalisées sur les divers lots de 3nR ainsi que sur leurs parents diploïdes et tétraploïdes en utilisant un génotypage avec 4 marqueurs microsatellites (CG10, L10, CG49 et Amy). Par ailleurs, le statut sanitaire des différents lots a été appréhendé par la recherche du virus OsHV-1 réalisée sur tous les géniteurs diploïdes et tétraploïdes ainsi que sur tous les lots (diploïdes et triploïdes) du testage et cela avant, pendant et après les périodes de mortalité estivales. Le testage des performances de biologiques (survie et rendement) a été réalisé sur estran dans deux sites (Agnas et la Floride) du bassin de Marennes Oléron.

Les résultats du PS II montrent sans ambiguïté que des améliorations notables pour la survie peuvent être obtenues au travers de la sélection. De plus, ce caractère est efficacement transmis aux individus triploïdes (3nR) qui s'avèrent plus résistants que tous les autres groupes ECLO avec un gain de survie allant jusqu'à 40%.

Enfin, dans le cadre d'un testage précoce des performances de survie des naissains qui seront produits en 2012 dans le cadre du PSIII, nous avons aussi montré que les meilleures performances de survie ont été obtenues pour les naissains 3nR. Ces naissains 3nR présentent un niveau de survie moyenne de près de 80% ce qui représente un gain de survie, relativement aux naissains non sélectionnés (diploïdes comme triploïdes), qui va de 65 à 70% et démontrant une fois de plus le transfert optimal et réussi du progrès génétique pour le caractère survie des naissains.

POINTS SAILLANTS DES PRESENTATIONS

Pouvreau : 1

- Nous présentons au travers de 3 exemples clés l'effet potentiel du climat sur l'écophysiologie de mollusques d'intérêt aquacole.
- Les séries biologiques utilisées concernent la reproduction et la survie de l'huître creuse et de l'huître plate sur les côtes françaises.
- La variabilité climatique est analysée au travers de l'utilisation d'indice climatique spécifique : les régimes de temps.
- La survie de l'huître creuse sur l'année, mais aussi la période ponte de l'huître plate au printemps sont fonction de l'occurrence du régime NAO+ au cours de l'hiver écoulé.
- Les modifications récentes des régimes de temps en été sont aussi supposées expliquer en partie l'augmentation de la variabilité du captage enregistrée chez l'huître creuse au cours de cette dernière décennie.
- L'application de notre approche à d'autres séries chronologiques disponibles en biologie marine est discutée.

Lagarde: 2

- Nous apportons de nouveaux éléments en lien avec les origines de la variabilité du recrutement naturel de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans la lagune de Thau.
- *C. gigas* apparaît comme une espèce réactive dans un écosystème lagunaire à faible inertie donc à fortes variations physiques (courant), hydrobiologiques (phytoplancton) et physicochimiques (température, oxygène).
- La mauvaise relation "nombre de larves grosses"/"nombre de naissains" fait apparaître en 2012 un verrou biologique dans les zones ostréicoles pendant la phase de métamorphose en lien avec la quantité de phytoplancton disponible.
- L'analyse globale de l'effet des facteurs environnementaux et la mise en place d'outils "pronostic" sont envisagées pour aider les ostréiculteurs dans la rationalisation du captage naturel en milieu lagunaire.

Robert/Caisey: 3

- L'élevage du pétoncle géant *Placopecten magellanicus* se situe dans le contexte régional de l'effondrement des activités de pêche et le besoin de ressources substitutives dans l'archipel de St Pierre et Miquelon.
- Une assistance en Recherche et Développement a été développée depuis 2007 en vue d'optimiser les processus de production sur le plan technique (suivis, sélections de sites, choix techniques, cycles d'élevage et captage) en lien avec la structure locale de développement ARDA, l'Ifremer et les différentes parties prenantes locales.
- Les particularités de l'approche porte sur le croisement de différentes techniques zootechniques, cartographique, de vidéo *in-situ*, de modélisation hydrodynamique et de suivis environnementaux.
- Un transfert technologique a par ailleurs été effectué à partir de la métropole (techniques de pêche, structures des filières, modalités de gestion de semis...).
- Les actions Ifremer ont permis de disposer d'un modèle hydrodynamique opérationnel (optimisation captage, compréhension de la thermocline), d'une cartographie des fonds benthiques sous SIG (sélection sites aquacoles), et de données

environnementales couplées aux performances de croissance dont les valorisations scientifiques sont en cours.

- Les étapes suivantes portent sur l'identification des sources trophiques, et performances de croissance selon les gradients thermiques (sclérodation).

Gagnery: 4

- Une synthèse de quelques acquis du projet OGIVE, dédié à l'étude des écosystèmes conchylicoles de Basse-Normandie, est présentée.
- Une étude de la capacité de support trophique de la baie des Veys est réalisée sur la base de mesures *in situ* et de modélisation.
- Les mesures *in situ* montrent une déplétion de la concentration en phytoplancton liée à la présence des huîtres ; cette déplétion est observée de manière récurrente dans le temps.
- Des simulations réalisées grâce à une chaîne de modélisation (hydrodynamisme, écosystème, écophysiologie) corroborent les observations *in situ*.
- Dans les conditions d'exploitation de la baie antérieures à la crise des surmortalités de naissain (*i.e.* biomasse en élevage de l'ordre de 10 000 t), la capacité de support trophique de la baie était atteinte.
- L'ensemble des résultats du projet sont mis à la disposition des partenaires du projet par un accès sécurisé au serveur Sextant©.

**Surmortalités,
Environnement, Zootechnie**

Rôle des facteurs énergétiques et trophiques dans la dynamique spatio-temporelle des mortalités d'huître creuse *Crassostrea gigas*

F. Pernet^{1,2}, F. Lagarde¹, N. Jeanne³, J. Barret¹, P. Le Gall¹, C. Quéré², E. Roque D'Orbcastel¹

¹ Ifremer, Laboratoire Environnement Ressource du Languedoc Roussillon, Bd Jean Monnet, 34200 Sète, France

² Ifremer, UMR LEMAR, Technopole de Brest-Iroise, BP 70 29280 Plouzané, France

³ Geovariances, 49bis avenue Franklin Roosevelt, BP 91 77212 Avon Cedex

L'objectif est de déterminer le rôle des facteurs énergétiques et trophique dans la dynamique spatio-temporelle des mortalités massives d'huîtres creuses. Nous avons mesuré la survie d'un lot d'huîtres sentinelles, âgé de moins d'un an, maintenu indemne de mortalité, dans lequel on ne détectait pas d'ADN appartenant à OsHV-1. Ce lot a été déployé mi-mars 2011 sur 106 stations dans la lagune de Thau. Des échantillons d'huîtres ont été régulièrement prélevés pour les analyses en pathologie et en biochimie. Les variables biochimiques suivies sont les réserves énergétiques (triglycérides et sucres totaux) et la composition en acides gras des huîtres utilisée comme indicateur trophique.

La surmortalité des huîtres a touché l'ensemble de la lagune de Thau, excepté deux sites éloignés des zones d'élevage. La mortalité cumulée finale a atteint plus de 80% des huîtres sentinelles sur la quasi-totalité des points de suivi. Nous avons donc choisi d'analyser le temps moyen de survie des huîtres sentinelles, un paramètre qui tient compte de la cinétique de mortalité dans le temps. Le temps moyen de survie des huîtres sentinelles, qui a été calculé en jours écoulés depuis le 6 avril 2011, variait entre 8 jours et plus de 45 jours, en fonction de la localisation dans la lagune : il était de seulement 15.0 jours dans les zones d'élevage contre 27.8 jours hors des zones d'élevage. Par conséquent, le temps moyen de survie des huîtres était moindre lorsqu'elles étaient placées dans les zones d'élevage, suggérant que les animaux placés dans les zones d'élevage étaient à l'origine de l'épizootie qui a sévi dans la lagune de Thau en 2011.

Tous les événements de mortalité constatés in situ coïncidaient avec la détection d'ADN viral appartenant à OsHV-1 dans les huîtres sentinelles. Toutefois, le temps moyen de survie était positivement corrélé avec la quantité de triglycérides (TAG) dans les huîtres avant les mortalités. Par conséquent, bien que OsHV-1 soit une cause prédominante de mortalité des huîtres, la teneur en réserves énergétiques est un paramètre explicatif important de la dynamique spatio-temporelle des mortalités. Les valeurs prises par le ratio 16:1n-7/16:0 étaient particulièrement élevées hors des zones d'élevage où les huîtres avaient survécu le plus longtemps. Les quantités de TAG dans les huîtres étaient positivement corrélées avec le ratio de 16:1n-7/16:0 ($r = 0.481$, $p < 0.001$), suggérant que l'abondance relative des diatomées dans le régime alimentaire de l'huître est corrélée avec les quantités de TAG accumulées dans les tissus. Par conséquent, l'environnement trophique des huîtres jouerait un rôle indirect mais important dans la dynamique spatio-temporelle des mortalités massives.

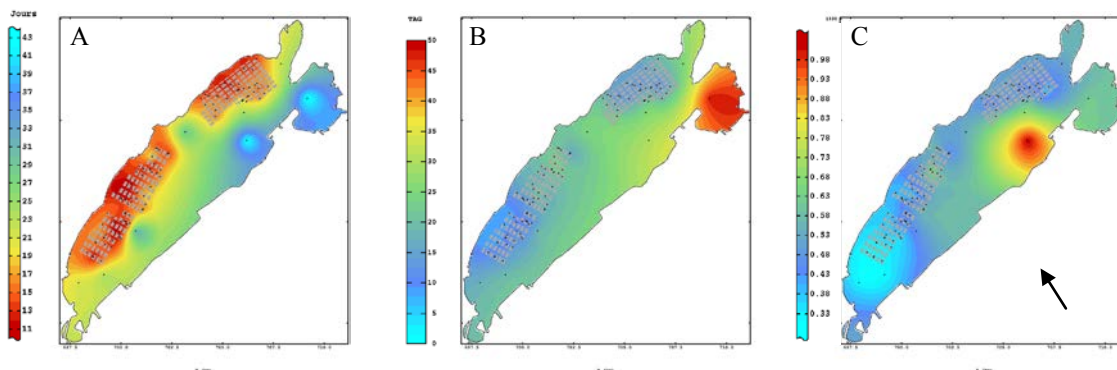


Fig. 1. Cartographie du temps de survie moyen (A), teneur en triglycérides (B) et valeur de ratio de 16 :1n-7/16:0 (C) dans les huîtres sentinelles déployées dans la lagune de Thau en 2011. Les points noirs indiquent les points de mesure. Les rectangles gris indiquent les zones d'élevage conchylicole.

Synthèse des expériences menées sur le déterminisme des mortalités d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* à Argenton et déclinaison sur le terrain

B. Petton, I. Quéau, P. Le Souchu, C. Mingant, L. Lebrun, R. Robert, F. Pernet

UMR LEMAR Ifremer/CNRS/UBO/IRD, Technopole Brest-Iroise, 29280 Plouzané.

Pendant l'été 2008, les mortalités d'huîtres âgées d'un an et moins se sont produites simultanément sur toutes les côtes françaises. Les jeunes huîtres ont été décimées à 40-100% selon les sites et les lots alors que les animaux plus âgés étaient moins affectés. Depuis, ces mortalités massives de naissain se sont reproduites chaque année lorsque la température de l'eau est comprise entre 16°C et 24°C. Dans ce contexte, seule la sélection génétique semble offrir des perspectives d'amélioration de la survie du naissain d'huître. L'objectif de notre travail consiste à déterminer des voies alternatives de sortie de crise. Pour y parvenir, nous avons défini des méthodes de production de lots d'huîtres naïves - jamais exposés à la maladie ou subi de mortalité anormale - et standardisée - la variance inter lot est minimisée. De plus, nous avons mis au point un protocole d'infection expérimentale par exposition de ces huîtres naïves sur le terrain où les mortalités sévissent. Enfin, nos travaux reposent sur une méthode de révélation de l'état sanitaire du naissain d'huître basée sur l'application d'un choc thermique. Ces outils méthodologiques fiables et reproductibles ont été utilisés pour répondre aux questions suivantes.

1. Quel est le rôle de la température, de l'hydrodynamique et de la biomasse infectieuse sur la transmission de la maladie des huîtres exposées aux huîtres saines et les mortalités associées ?
2. Quel est l'effet de l'âge des huîtres et de la date d'ensemencement sur les mortalités ?

Nos résultats montrent que la fenêtre thermique optimale pour la transmission de la maladie des huîtres infectées vers les animaux naïfs est comprise entre 16 et 22°C. En dehors de cette fenêtre, la survie des huîtres naïves placées en cohabitation avec les huîtres infectées est meilleure, proche de 100%, corroborant ainsi les observations de terrain. D'autre part, les huîtres naïves transférées sur le terrain en novembre lorsque la température est <16°C demeurent saines et exemptes de mortalité jusqu'en mai suivant lorsque ce paramètre franchit ce seuil thermique. Enfin, la survie des huîtres naïves placées en cohabitation avec des huîtres infectées est positivement corrélée avec le renouvellement en eau (hydrodynamisme) et négativement corrélée avec la biomasse d'huîtres infectées. Les facteurs hydrodynamiques et biomasse infectieuse sont probablement des sources de variance importantes de la survie des huîtres sur le terrain.

Nous avons comparé la survie de cinq lots de naissains standardisés, d'âge compris entre 4,5 à 10,5 mois, déployés sur le terrain entre octobre 2010 et avril 2011 respectivement. La survie varie entre 35 % et 60 % et est positivement corrélée avec l'âge des huîtres. Le gain de survie est de 4 % par mois. En seconde année, les mortalités associées à OsHV-1 sont nulles pour ces lots déjà impactés. Toutefois, de nouvelles mortalités se produisent sur ces lots au stade adulte, malgré l'absence de détection d'ADN appartenant à OsHV-1.

En conclusion, la température est le facteur déclenchant de la maladie conduisant aux mortalités massives de naissain d'huîtres creuses alors que l'hydrodynamique, la biomasse infectieuse en présence et l'âge des huîtres sont des facteurs qui interagissent en modulant la survie finale.

Etude des populations bactériennes associées aux élevages larvaires de *Crassostrea gigas* en système d'eau recyclée

K. Asmani ¹, B. Petton ², C. Mercier ¹, J. Le Grand ¹, R. Robert ², J.L Nicolas ¹

Ifremer UMR 6539 LEMAR, RBE-PFOM-PI, ¹ Plouzané et ² Argenton.

Les larves de bivalves sont habituellement élevées en eau renouvelée séquentiellement et plus rarement en continu (Flow through). Dans ces cas l'approvisionnement en eau marine est soumis à une grande fluctuation de la qualité de l'eau qui est souvent difficile à contrôler. Par ailleurs, des systèmes de recyclage ont été mis en place en pisciculture afin de stabiliser et de contrôler plus facilement les paramètres de l'eau d'élevage. Cependant, il n'existe que peu d'études sur l'écologie microbienne des systèmes de recyclage jusque-là utilisés alors que la stabilité des populations bactériennes apparaît comme essentiel. Au cours de deux expérimentations avec des larves d'huîtres visant à mettre au point ces systèmes de recyclage, les populations bactériennes ont été suivies dans différents compartiments pour répondre à ces questions : les flores bactériennes sont-elles stables et diversifiées ? et présentent-elles un risque pour l'élevage ou au contraire sont-elles favorables ?

Quatre conditions d'élevage ont été suivies à l'écloserie expérimentale d'Argenton : la première avec un apport de 25% d'eau neuve, la seconde avec 10% d'eau neuve, la troisième sans apport d'eau neuve (circuit entièrement fermé) et une dernière condition avec un renouvellement continu de l'eau afin de servir de témoin. L'étude de la microflore au niveau de ces systèmes a été réalisée tout d'abord par une méthode moléculaire (DHPLC : denaturing high performance chromatography) puis complétée par une approche culturale. Les résultats obtenus ont montré que les systèmes de recyclage tendaient à diminuer la charge bactérienne dans les larves, qu'ils ne favorisaient pas l'implantation de vibrions dans celles-ci mais au contraire celle d'une flore stable et diversifiée (figure 1). Une expérience sur l'influence de la densité larvaire (50 larves/ml, 150 larves/ml et 300 larves/ml) a été également réalisée dans les circuits fermés à 10% de renouvellement et dans les circuits ouverts. Une étude de la structure de la microflore par DHPLC a été réalisée dans ces systèmes. Les résultats obtenus montrent que la survie larvaire est identique entre les deux types d'élevage et seuls les circuits ouverts avec 300 larves/ml montrent une survie sensiblement inférieure aux autres conditions. Il apparaît également que les systèmes de recyclage maintiennent une flore stable et diversifiée même avec une grande densité larvaire avec très peu de vibrions dans les larves. De plus, il semblerait que les cultures d'algues soient la source principale de l'apport des bactéries dans les élevages laissant penser qu'elles pourraient être contrôlées par cette voie. L'observation des biofilms formés au microscope électronique à balayage sur la paroi des bacs d'élevage, a montré que le développement du biofilm était moindre dans les bacs des circuits fermés que dans ceux des circuits ouverts (figure 2).

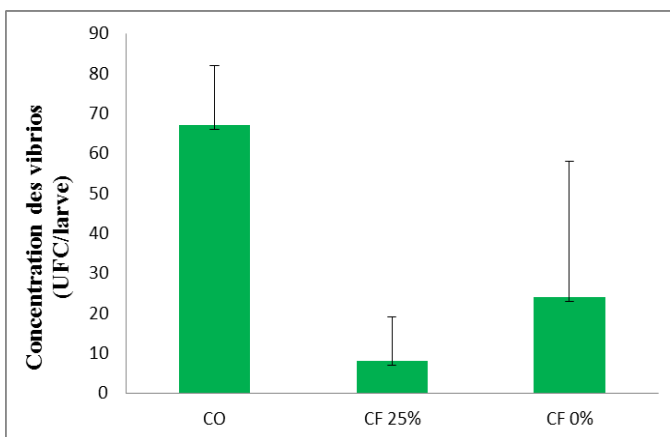
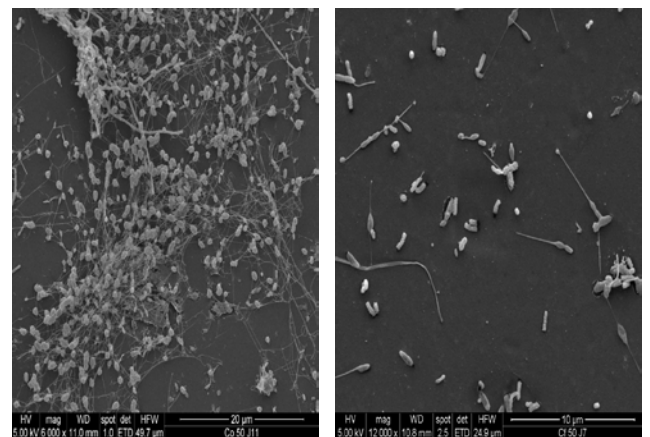


Fig. 1. Concentration des vibrions dans les larves à J16



Circuit ouvert à J11

Circuit fermé à J11

Fig. 2. Observation du biofilm au Microscope électronique à balayage

Feeding behaviour and azaspiracid accumulation of *Mytilus edulis* exposed to *Azadinium spinosum*

P. Hess, T. Jauffrais, V. Séchet

Ifremer, Laboratoire EMP/PHYC. Rue de l'Île d'Yeu. 44311 Nantes. France.

Azadinium spinosum is a small dinophyceae (12-16 μm length and 7-11 μm width) recently isolated and azaspiracid-1 and -2 (AZAs) primary producer. Following previous results on AZA accumulation in blue mussels; interrogations were raised on the effect of *A. spinosum* on mussel feeding behaviour, notably because of increased mortality and effects observed in the thickness of the digestive gland tubules. Individual assessment of mussel feeding time activity (FTA), clearance rate (CR), filtration rate (FR) and absorption rate (AR) were carried out to compare a toxic and non-toxic diet, respectively based on *A. spinosum* and *Isochrysis aff. galbana* (T-Iso). Furthermore, kinetics of AZA accumulation and biotransformation in mussels were assessed during the experiment using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *A. spinosum* had a significant effect on mussel feeding behaviour compared to T-Iso: CR was divided by 6, FTA by 5, TFR by 3 and AR presented a negative value on the last day of exposure. However, a fast AZA accumulation was observed during the first hours of the trial; 4 hours were necessary to exceed the regulatory level. Subsequently, the concentration stabilized until the end of the study ($\sim 200 \mu\text{g.kg}^{-1}$). AZA bioconversion was also found to be a rapid process, as after 3 h of exposure AZA17, -19 and AZA7-10 were already found, with a proportion of AZA17 equal to AZA2. These results showed the negative effect of *A. spinosum* on feeding activity and a possible regulation of AZA uptake by decreasing filtration and increasing pseudofaeces production. These results will also be put into context with a previous study on medaka fish embryos, and a recent study on the accumulation of AZAs from the dissolved phase to hypothesize on the potential effects of other marine organisms.

POINTS SAILLANTS DES PRESENTATIONS

Fleury: 5

- Objectifs RESCO : suivi national des variations spatio-temporel des performances conchylicoles procurant des informations auprès du ministère (DGAL), de la profession (site internet dédié), des scientifiques (données bancarisées et accessibles).
- Mise en œuvre RESCO : suivi intégratif de différents indicateurs (environnements, physiologiques, et zoo-sanitaire) sur des lots sentinelles d'huîtres dispersés sur 13 sites-ateliers.
- Faits marquants 2012 : taux moyens mortalité respectivement de $14\% \pm 6,7$, $72\% \pm 15$ et $65\% \pm 17$ sur les lots de 18 mois, naissain captage naturel, naissain éclosion, avec des tendances climatiques se caractérisant par un hiver doux, un printemps et un été frais.
- Analyse factorielle multiple des cinétiques de mortalités sur période 2009-2012: différences significatives entre sites 'Sud' et sites 'Nord', ainsi qu'entre naissain de captage naturel et naissain d'éclosion.
- Analyse de la relation température / mortalité: ajustement d'un modèle de prédiction du risque de mortalité en fonction de la moyenne et de la variance de la température.
- Mise au point d'un modèle de Cox pour exprimer le risque instantané de mortalité en fonction de divers facteurs explicatifs: nécessité d'augmenter et de fiabiliser le jeu de données acquis par le réseau pour renforcer les analyses.
- Perspectives d'évolution du réseau: possibilité d'utiliser la structure et l'instrumentation des sites RESCO pour suivre/valider d'autres suivis expérimentaux.

Stanisière: 6

- La communication établit un lien entre épisodes hypoxiques et performances d'élevage des huîtres creuses *Crassostrea gigas* en baie de Quiberon (mortalité et croissance).
- Ce lien est étayé par la coïncidence remarquable entre les manifestations d'anomalies de performances ostréicoles (surmortalités en 2006, déficits de croissance en 2010) et les mesures ou simulations (modélisation biogéochimique) de déficits d'oxygène et stratifications thermiques. La bibliographie fournit des arguments pour étayer ce lien de causalité, directe ou indirecte.
- Cette étude éclaire plus largement les risques auxquels sont exposés les écosystèmes et la conchyliculture, en fonction des facteurs naturels (météo, sédiments, morphologie côtière) et anthropiques (niveau et répartition des stocks).

Benabdelmouna: 7

- Sur la base des recommandations des Assises de la Conchyliculture, un protocole d'approvisionnement partiel de sauvegarde en naissains triploïdes améliorés (Triplo R) a été mis en place en 2010 (PS1) et ensuite reconduit en 2011 (PS2) et en 2012(PS3).
- En 2012, les performances de survie des Triplo R produits en 2011 ont été estimées comparativement à celles de naissains témoins, triploïdes comme diploïdes.
- Les résultats montrent sans ambiguïté que des améliorations notables pour la survie peuvent être obtenues au travers de la sélection : le gain de survie des Triplos R est de 10% au terme du PS1, 40% pour le PS2 et plus de 70% attendu pour le PS3.

- L'amélioration graduelle et croissante réalisée depuis 2008 au niveau diploïde est actuellement considérée comme optimale. Elle est complètement transférée aux niveaux polyploïdes.

Pernet : 8

- Nous avons déterminé le rôle des facteurs énergétiques et trophique dans la dynamique spatio-temporelle des mortalités massives d'huîtres creuses.
- Nous avons mesuré la survie d'un lot d'huîtres sentinelles, âgé de moins d'un an, maintenu indemne de mortalité déployé mi-mars 2011 sur 106 stations dans la lagune de Thau.
- Bien que les mortalités coïncident avec la détection d'ADN viral de OsHV-1 dans les huîtres sentinelles, le temps moyen de survie était positivement corrélé avec les réserves de triglycérides (TAG) dans les huîtres avant les mortalités.
- L'abondance relative des diatomées dans le régime alimentaire de l'huître évaluée avec des indicateurs acides gras est corrélée avec les quantités de TAG.
- L'environnement trophique des huîtres jouerait un rôle indirect mais important dans la dynamique spatio-temporelle des mortalités massives.

Petton : 9

- Nous avons étudié les sources de variance des mortalités associées à la détection d'OsHV-1 μ var.
- Trois méthodologies ont été développées: naissains standardisés «naïfs» à OsHV-1, protocole d'infection expérimentale par déploiement de naissain naïfs en milieu naturel infectieux et révélation des maladies en outil contrôlé et une épreuve de qualification en laboratoire (21 jours à 21°C) permettant d'établir le statut sanitaire OsHV-1 des naissains et des écosystèmes.
- La température à un rôle on/off dans le processus de la maladie (seuil clé 16°C).
- Contrairement à la température, l'hydrodynamisme et la biomasse infectieuse pourraient expliquer les variances des mortalités (résultats de l'approche en laboratoire).
- L'âge de l'huître est un paramètre de régulation des mortalités.

Asmani : 10

- Au cours de deux expérimentations visant à adapter les systèmes de recyclage pour l'élevage des larves d'huîtres creuses, les populations bactériennes ont été suivies dans différents compartiments.
- Les systèmes de recyclage tendent à diminuer la charge bactérienne dans les larves même à une grande densité larvaire.
- Les systèmes de recyclage ne favorisent pas l'implantation de vibriens dans celles-ci mais, au contraire, celle d'une flore stable et diversifiée.
- La microflore des larves se constitue dès les premiers jours et se maintient au cours de l'élevage indépendamment de celle de l'eau.
- Le biofilms formé sur les parois des enceintes d'élevage sont plus réduits dans les systèmes de recyclage que dans les circuits ouverts.
- Les algues semblent être la source principale des bactéries dans les élevages.

Epidémiologie, Pathogènes, Immunité

Perspectives de la surveillance épidémiologique en santé des coquillages marins à l'Ifremer

C. Lupo, C. François

Ifremer LGP2M, Avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade

La surveillance épidémiologique est un outil d'aide à la décision en matière de santé, à la base de toute politique de prévention et de lutte contre les maladies. Elle vise à fournir des informations et des analyses précises et fiables sur la situation et l'évolution épidémiologique des maladies présentes et elle exerce une vigilance vis-à-vis de l'introduction de maladies qui menacent le territoire ou de la réémergence de maladies éradiquées. Ainsi l'analyse des données issues de la surveillance épidémiologique est essentielle pour détecter précocement les changements de situations en vue d'assurer la réactivité nécessaire à la maîtrise des situations défavorables et pour permettre une évaluation pertinente des risques sanitaires, afin d'éclairer la politique de santé animale et d'en évaluer l'efficacité.

En France, la surveillance des maladies des coquillages marins est organisée par le Réseau de Pathologie des mollusques (Repamo) depuis 1992. Au cours du 1^{er} semestre 2012, le dispositif de surveillance a fait l'objet d'une évaluation par la Plateforme de surveillance épidémiologique en santé animale, à la demande du ministère chargé de l'agriculture. Une piste d'amélioration suggérée concerne la redéfinition des objectifs du réseau et la mise en adéquation des modalités mises en place pour surveiller les risques définis. Les enjeux liés à la santé des coquillages marins ont en effet évolué au cours des vingt dernières années, en lien avec plusieurs émergences récentes entraînant des pertes économiques lourdes. L'Ifremer a donc initié une démarche d'évolution à moyen terme de la surveillance de la santé des coquillages marins à l'égard des agents infectieux et une évolution du positionnement de l'Ifremer dans sa mise en œuvre.

L'élevage conchylicole pratiqué en milieu marin, ouvert et pratiquement non contrôlable, est particulièrement vulnérable aux maladies transmissibles. Les pratiques et conditions d'élevage favorisent les risques d'introduction et de propagation rapide d'une maladie, alors que les mesures de lutte sont très limitées une fois que la maladie est présente. La priorité est donc d'éviter l'apparition d'une maladie exotique ou l'émergence d'une maladie nouvelle. Par conséquent, l'objectif prioritaire de la surveillance épidémiologique est la détection précoce de tout organisme pathogène exotique introduit ou nouveau, afin de limiter sa propagation et éventuellement d'en obtenir l'éradication.

Pour cela, deux modalités de surveillance complémentaires peuvent être combinées. L'alerte est générée différemment selon la modalité de surveillance mais repose dans tous les cas sur la recherche d'anomalies correspondant à un phénomène inhabituel pouvant être lié à l'introduction d'une maladie exotique ou à l'apparition d'une maladie émergente, qu'il conviendrait alors de rechercher par des analyses de laboratoire spécifiques. D'une part, une approche réactive, la surveillance événementielle des mortalités de coquillages, repose sur la détection précoce des premiers cas de mortalité par les conchyliculteurs/pêcheurs. Le délai entre introduction et détection est fonction notamment de la vigilance des acteurs de terrain et de la disponibilité et des performances des laboratoires chargés du diagnostic. L'alerte, plutôt que de reposer sur le déclenchement d'une analyse pour chaque déclaration de mortalité par les conchyliculteurs, serait déclenchée par la détection d'une anomalie spatio-temporelle, *i.e.* agrégat ou foyer probable, de la répartition des déclarations. D'autre part, une approche pro-active, la surveillance planifiée fondée sur le risque d'introduction d'une maladie exotique ou l'apparition d'une maladie émergente, repose sur l'observation continue et régulière d'animaux sentinelles déployés dans des lieux à risque, doublée des analyses diagnostiques de laboratoire nécessaires à la reconnaissance des organismes pathogènes faisant spécifiquement l'objet de la surveillance. L'alerte serait générée soit par la détection d'un organisme pathogène exotique, soit par le dépassement d'un seuil des indicateurs zootechniques, sanitaires ou environnementaux, déterminés à l'avance. Des méthodes statistiques adaptées permettraient d'identifier les écarts anormaux conduisant à déclencher l'alerte.

***Vibrio splendidus* et mortalité d'huîtres creuses : tester l'hypothèse d'un partage des armes**

T. Versigny¹, B. Petton², D. Goudenège¹, F. Le Roux¹

¹ Équipe émergente Ifremer – UPMC, Génomique des Vibrios (GV), Station biologique de Roscoff, Place Georges Teissier 29680 Roscoff.

² Station Ifremer d'Argenton, Presqu'île du vivier, 29840 Landunvez.

Les huîtres creuses *Crassostrea gigas* subissant des mortalités sont souvent infectées par des populations diverses de bactéries apparentées à *Vibrio splendidus* (> 6 génotypes). Ces souches présentent une virulence modérée non corrélée avec les marqueurs taxonomiques. Une virulence accrue est observée quand les souches sont injectées en groupe, ce qui suggère que la vibriose résulte d'une combinaison de facteurs associés à différentes souches au sein de la population. **Notre objectif est d'identifier les caractéristiques communes à ces populations virulentes, afin de définir les facteurs et les interactions qui sont importants pour la pathogénèse.**

Un lot de naissains naïfs a été exposé sur site infectieux (rade de Brest, juin 2011) pendant 16 jours puis replacé en conditions contrôlées en présence ou non d'antibiotique durant 8 jours. Des mortalités apparaissent plus rapidement en absence de chloramphénicol et atteignent un taux maximum de 50 % au bout de 5 jours, équivalent à celui observé pour le lot témoin en milieu naturel (Figure 1). Ces résultats démontrent un rôle des bactéries dans la pleine expression de la maladie. Afin d'étudier l'évolution de la population bactérienne avant et pendant l'apparition des mortalités, 32 souches ont été isolées quotidiennement (J0 à J5). Le génotypage de ces 192 souches (16S et *gyrB*) révèle que 95 % des isolats sont apparentés à *Vibrio splendidus*, se répartissant en plusieurs clades sans corrélation avec le jour d'isolement. Nous avons alors testé la virulence de chaque population de souches (n=32 ; J0 à J5) en infection expérimentale. La population J2 induisant le plus fort taux de mortalité (Figure 2) a été sélectionnée pour la suite du travail. La reproductibilité de la DL50 a été démontrée par 10 expériences distinctes, en utilisant des huîtres de plusieurs origines, âges et tailles. Au sein de la population J2, le criblage de souches ou de combinaisons virulentes est effectué par infection expérimentale en utilisant du naissain « standardisé ». Le génome de ces 32 souches a été séquencé afin d'identifier par des approches de génomique comparative les gènes communs et spécifiques des souches ou combinaisons virulentes. La disposition d'un génome complet (Le Roux et al., 2009) et d'outils génétiques (Le Roux et al., 2007) facilitera considérablement l'identification des gènes potentiellement impliqués dans la virulence de cette population.

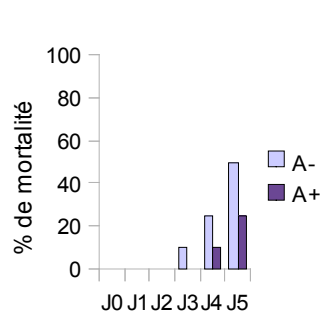


Fig 1 : Cinétique d'expression de la maladie au laboratoire

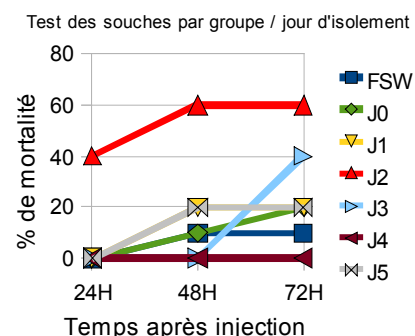


Fig 2 : Sélection d'une population virulente

Références :

Le Roux F, Binesse J, Saulnier D, & Mazel D (2007) Construction of a *Vibrio splendidus* mutant lacking the metalloprotease gene *vsm* by use of a novel counterselectable suicide vector. *Appl Environ Microbiol* 73(3):777-784.
 Le Roux F, et al. (2009) Genome sequence of *Vibrio splendidus*: an abundant planctonic marine species with a large genotypic diversity. *Environmental microbiology* 11(8):1959-1970.

Bilan sur les mortalités d'huîtres creuses adultes *Crassostrea gigas* associées à la détection de *Vibrio aestuarianus* en 2012

M.A Travers¹, J.L. Nicolas², C. François¹, P. Haffner¹, D. Tourbiez¹, J. Le Grand², C. Garcia¹, C. Lupo¹, T. Renault¹

¹ Ifremer LGP, Avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade

² Ifremer UMR 6539 LEMAR, RBE-PFOM-PI, Plouzané

Vibrio aestuarianus est une bactérie endémique en France. Elle a été décrite dès les années 2000 lors d'épisodes de mortalité d'huître creuse, *Crassostrea gigas*. En conditions de laboratoire, cette bactérie est capable d'induire une infection et de fortes mortalités en quelques jours.

Au cours de l'année 2012, 15 cas de mortalité d'huîtres creuses adultes, *Crassostrea gigas*, ont fait l'objet d'analyses dans le cadre du réseau Repamo. Les analyses réalisées ont permis de détecter de l'ADN de *Vibrio aestuarianus* dans l'ensemble de ces lots. Il est important de noter que pour l'ensemble des lots, des quantités élevées d'ADN bactérien ont été observées chez les individus moribonds analysés alors que peu/pas d'ADN bactérien a été détecté chez les individus sains. De plus, des observations en histologie ont montré la présence de foyers bactériens et de lésions caractéristiques.

Par rapport aux années précédentes, la proportion de lots dans lesquels la bactérie a été détectée apparaît comme en augmentation en 2012, principalement chez les adultes (0/5 en 2010, 5/6 en 2011, 15/15 en 2012). Cependant, une comparaison inter-annuelle reste difficile. En effet, la technique diagnostique de mise en évidence de *V. aestuarianus* a évolué au cours des années, de même que la méthode de sélection des cas de mortalité déclarés faisant l'objet d'une saisine Repamo.

Ces différents éléments ne permettent pas de généraliser les résultats des lots analysés dans le contexte du réseau Repamo en 2012 à l'ensemble de la situation française. Cependant, ils permettent de détecter la modification d'un phénomène et de soulever plusieurs hypothèses.

En effet, l'observation de mortalités d'huîtres creuses adultes, caractérisées par des pourcentages élevés et une augmentation apparente du nombre de cas, au cours de l'été 2012 pose la question de l'émergence d'un phénomène particulier.

Différentes hypothèses (non exclusives) qui pourraient venir expliquer ce phénomène sont actuellement en cours d'étude et seront développées:

- (1) une émergence récente de souches particulière de *V. aestuarianus*,
- (2) l'augmentation de la sensibilité des animaux à l'infection bactérienne,
- (3) des modifications de l'environnement favorisant la multiplication et/ou la virulence de l'agent infectieux et/ou la réceptivité de l'hôte

Spécificité de la réponse antimicrobienne chez *Crassostrea gigas* : mécanismes moléculaires de reconnaissance et de signalisation

T. Green¹, J. de Lorgeril¹, C. Montagnani¹

¹ Ifremer – UMR 5119 Ecosym, unité BOME, Université Montpellier 2, 34095 Montpellier

Ces travaux s'inscrivent dans le cadre des épisodes de mortalités massives menaçant l'économie de la filière ostréicole française depuis 2008. Ces émergences régulières de pathogènes opportunistes - associées au fait que ces organismes soient exposés de façon continue à une riche flore microbienne- soulèvent la question de l'activation et de la spécificité de la réponse immunitaire de l'huître. Il s'agit ici de comprendre la part jouée par les différents pathogènes viraux ou bactériens (*Vibrio splendidus*, *V. aesturianus* et OsHV-1 μ var) dans l'induction de l'immunité innée aboutissant à une réponse efficace ou non lors des épisodes infectieux.

Dans ce but, nous avons dans un premier temps exploré les mécanismes moléculaires impliqués dans la réponse antivirale encore méconnue chez les mollusques. Des études *in vivo* ont été réalisées afin de mettre en évidence l'existence d'une réponse antivirale inductible chez l'huître. Lors de deux expériences indépendantes, un homologue synthétique d'ARN double brin (poly I:C) a été injecté 24h avant l'injection d'une suspension virale enrichie en virus OsHV-1 μ var. Nous avons pu montrer que ce motif moléculaire associé aux infections virales induisait un état antiviral protégeant les huîtres contre l'infection (diminution significative de la charge virale de 89%). Cette stimulation (« priming ») de l'immunité est indépendante de la séquence ARN injectée mais spécifique de la réponse antivirale, un priming par des vibrios tués n'induisant aucun effet protecteur sur l'infection à OsHV-1. L'analyse de l'expression de gènes candidats connus pour leur implication dans la réponse antivirale (Toll-like Receptor, éléments de voies de signalisation NF- κ B et IRF, molécule antivirale PKR) a par ailleurs montré que la réponse initiée comportait des similitudes frappantes avec la voie des interférons (IFN), caractéristique de la réponse antivirale chez les vertébrés.

Ces premiers résultats ont été complétés par l'identification *in silico* au sein du génome de *C. gigas* des voies antivirales connues chez les vertébrés et invertébrés (autophagie, apoptose, RLR, STAT, RNAi, ...). Les stratégies de reconnaissance aux différents pathogènes seront explorées plus avant par l'analyse transcriptomique haut débit de gènes sélectionnés *in silico* pour leur implication dans la reconnaissance et dans des voies de signalisation de l'immunité innée, sur des animaux stimulés par ces trois pathogènes. Les résultats apportés nous permettront d'approfondir nos connaissances sur les mécanismes moléculaires mis en place lors des interactions entre l'huître et sa microflore pour mieux cerner l'origine des mortalités estivales actuelles.

Analyse de la diversité de différents échantillons d'OsHV-1 d'origines géographiques diverses sur la base de séquences de trois régions spécifiques du génome

V. Barbosa-Solomieu¹, N. Faury¹, A. Joyce⁴, D. Cheslett³, S. Webb², T. Renault¹

¹ Ifremer LGP, Avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade, France

² Cawthron Institute, Nelson, Nouvelle Zélande

³ Marine Institute, Irlande

⁴ Tjärnö Marine Biological Laboratory, Department of Marine Ecology, Gothenburg University, Suède

L'ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) a été associé à des épisodes de mortalité chez l'huître creuse (*Crassostrea gigas*) en France, au cours des années 1990-2000. A partir de 2008, ces mortalités massives ont pris une ampleur sans précédent et ont été rapportées dans d'autres pays européens. Le génome viral a été entièrement séquencé et ces données moléculaires ont permis de classer le virus comme le premier membre de la famille des *Malacoherpesviridae* au sein de l'ordre des *Herpesvirales*.

Un certain nombre de variants d'OsHV-1 ont été décrits sur la base d'analyses portant essentiellement sur du polymorphisme au niveau de l'ORF4. Des travaux plus récents ont montré que l'analyse indépendante ou combinée de données de séquence de trois régions particulières (ORF4, ORFs35-36-37-38 et ORFs42-43) permet de définir différents groupes.

Ce principe a été appliqué à une collection constituée d'échantillons prélevés entre 1993 et 2010 en France mais aussi à l'étranger (Irlande, Etats-Unis, Chine, Japon et Nouvelle Zélande). Depuis la publication de ces résultats, la collection a été enrichie de nouveaux échantillons en provenance de Tunisie, de Corée, du Brésil, d'Irlande, de Nouvelle Zélande, de Suède, d'Espagne et des Pays Bas. L'analyse phylogénétique de ces données de séquençage partiel permet de mieux appréhender la diversité génétique des échantillons d'OsHV-1 d'origines géographiques différentes.

Etude *in vivo* de la cinétique d'expression des gènes viraux et cellulaires au cours de l'infection à OsHV-1 chez le naissain d'huître creuse, *Crassostrea gigas*

Segarra A., Faury N., Haffner P., Mauduit F., Moreau P., Pépin J.F., Tourbiez D., Trancard S., Travers M.A., Renault T.

Ifremer LGP, Avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade

Depuis 1991, de forts taux de mortalité chez les huîtres creuses âgées de moins d'un an associées à la détection d'un herpes virus, appelé OsHV-1, sont rapportés dans différents pays, dont la France. En raison des forts enjeux économiques et écologiques il apparaît vital d'étudier les interactions entre l'hôte et son agent infectieux afin de mieux comprendre comment ce virus se réplique et les mécanismes de défense de *Crassostrea gigas* face à OsHV-1. Dans ce contexte, une étude cinétique du transcriptome du variant viral OsHV-1 μ Var et de *C. gigas* a été réalisée lors d'une infection expérimentale chez du naissain de deux familles d'huîtres présentant des sensibilités contrastées vis-à-vis de l'infection virale. Ainsi, 39 gènes viraux et 17 gènes de l'hôte ont été sélectionnés et étudiés par PCR en temps réel.

Les résultats obtenus ont permis d'observer une détection plus précoce des transcrits viraux chez la famille la plus sensible et cela pour les 39 gènes (12h post infection versus 26h p.i) (Figure 1). De plus, l'analyse de l'expression relative du gène de l'hôte codant le Myeloid differentiation factor 88 (MyD88) montre une sur-expression plus importante chez la famille la plus sensible à 26h p.i (R=120 chez la famille la plus sensible versus R=21 chez la famille la moins sensible) (Figure 2).

Cette étude a permis de détecter la présence d'ARN transcrits durant une infection expérimentale à OsHV-1 chez le naissain d'huître creuse *C. gigas*. Ceci confirme la répllication du virus au sein même de son hôte et par conséquent renseigne sur le cycle viral du variant OsHV-1 μ Var. De plus, l'étude de l'expression des gènes de l'hôte montre des différences entre les deux familles testées.

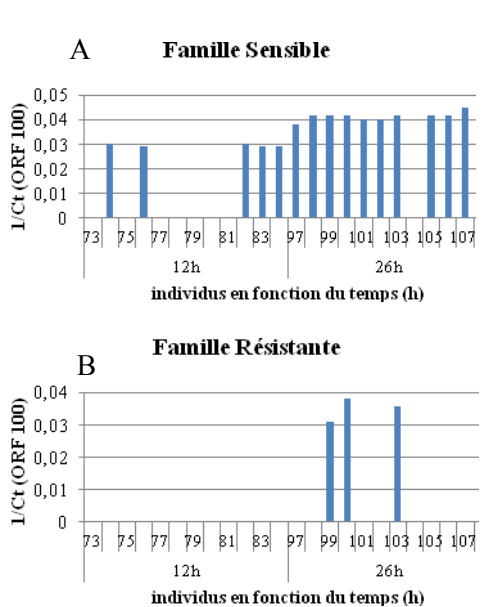


Fig.1: Exemple de détection des ARNm de l'ORF 100 du variant OsHV-1 μ Var durant une infection *in vivo* chez *Crassostrea gigas*. (A) chez la famille la plus sensible (B) chez la famille la moins sensible. Les temps 0h, 4h et 8h ne présentaient aucune détection.

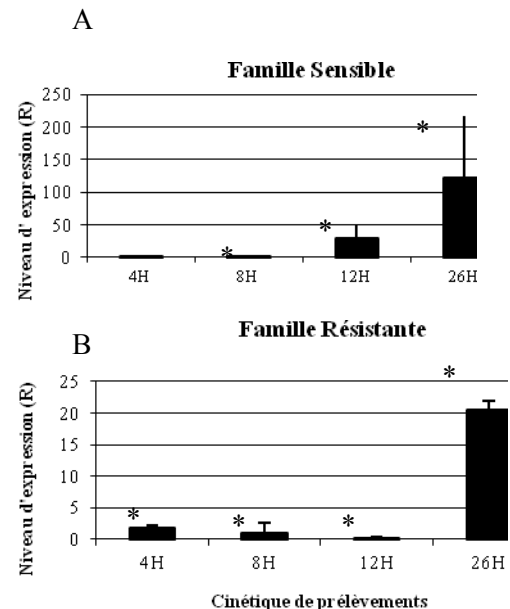


Fig.2: Expression relative du gène codant pour le Myeloid differentiation factor 88 au cours de l'infection virale. L'expression relative des gènes cellulaires est normalisée avec le gène codant pour Elongation factor1 α et le calibrateur est le temps 0h. (A) chez la famille la plus sensible (B) chez la famille la moins sensible. N=12

Un point sur le projet BIVALIFE - Management of infectious diseases in oysters and mussels in Europe -

T. Renault¹, I. Arzul¹, V. Barbosa-Solomieu¹, R. Brizard¹, L. Degremont¹, N. Faury¹, P. Haffner¹, J. Haure², A. Layec¹, M. Nourry², M. Papin², J.-F. Pepin¹, A. Segarra¹, S. Trancart¹, M.-A. Travers¹, D. Tourbiez¹

¹ Ifremer LGP La Tremblade,, Avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade, France

² Ifremer LGP Bouin,, Polder des champs, 85230 Bouin, France

BIVALIFE est un projet de type ‘Collaborative project’ (small or medium-scale focused research project). Il a commencé en février 2011 pour une durée de 36 mois. Les objectifs généraux sont d’une part d’apporter des connaissances nouvelles concernant certains agents infectant les bivalves et d’autre part de développer des approches pratiques pour le contrôle des maladies causées par ces agents pathogènes.

Détection et identification des agents infectieux considérés comme important et facteurs de risque associés

Le transfert et la validation de techniques moléculaires de diagnostic pour la détection du virus OsHV-1 et des bactéries *Vibrio splendidus*, *V. aestuarianus* et *Nocardia crassostreae* ont été réalisés. Pour la validation de ces techniques, plusieurs essais de comparaison inter-laboratoires ont été menés. Des sites caractéristiques ont été sélectionnés en France (3), en Irlande (3), en Italie (1), aux Pays Bas (2) et en Espagne (3). Des huîtres et des moules ont été collectées en 2011 et 2012 (avant, pendant et après mortalités) et ont fait l’objet d’analyses pour la recherche d’agents infectieux (OsHV-1, *Vibrio splendidus*, *V. aestuarianus* et *Nocardia crassostreae*). Une base de données concernant les caractéristiques des sites de prélèvements et la caractérisation des agents infectieux détectés dans ces sites a été développée dans le cadre du projet.

Mécanismes permettant aux agents infectieux de persister hors de l’hôte

Comme aucune lignée cellulaire n’est aujourd’hui disponible pour permettre la réplication du virus OsHV-1 *in vitro*, une approche pour mesurer le pouvoir infectieux du virus a été développée sur la base de la recherche et la détection d’ARNs viraux. En effet, la présence d’ARNs viraux dans un échantillon peut être un bon témoin d’une réplication virale active. Ainsi, deux familles bi-parentales d’huîtres creuses ont été sélectionnées sur la base de leur sensibilité contrastée à l’infection virale en conditions de laboratoire. Après injection de matériel infectieux dans le muscle adducteur, la mortalité a été suivie et 39 gènes viraux ont été ciblés et leurs transcrits recherchés. Des transcrits viraux ont ainsi pu être détectés uniquement chez les animaux infectés dès 12 heures après infection et certains des gènes ont montré des niveaux différents de transcrits en fonction du temps.

Agents pathogènes d’intérêt : identification de facteurs de virulences intrinsèques et effets sur les mécanismes de défense de l’hôte

Des huîtres creuses ont été produites afin de disposer de matériel biologique contrasté en matière de sensibilité aux maladies. Il a été ainsi obtenu des familles d’animaux présentant des sensibilités différentes au virus OsVH-1 ainsi qu’à *V. splendidus*, *V. aestuarianus* et *V. harveyi*. L’expression de gènes de l’immunité a été étudiée chez des huîtres creuses infectées par le virus OsHV-1 et chez des huîtres non infectées. Des huîtres appartenant à deux familles présentant des sensibilités à l’infection à OsHV-1 contrastées ont été infectées et l’expression de 19 gènes cellulaires liés à l’immunité a été analysée en PCR en temps réel après injection du matériel infectieux. Il a pu ainsi être mis en évidence la sur-expression de certains gènes comme le gène codant pour le facteur MyD88 chez les animaux infectés en comparaison.

Contrôle et éradication des agents pathogènes : développement de méthodes, d’essais de terrain et de recommandations

Il a pu être montré que les broyats de tissus infectieux (contenant le virus OsHV-1) après traitement par les UVs à différentes doses permettaient d’observer une inactivation du virus (absence de mortalité des animaux injectés et absence de détection d’ADN viral).

Une approche intégrée pour mieux comprendre le cycle du protozoaire parasite *Marteilia refringens*

B. Chollet¹, I. Arzul¹, S. Boyer², D. Bonnet², J. Gaillard¹, J.-P. Herbourg¹, Y. Baldi³, S. Lerond¹, M. Robert¹, Y. Couraleau¹, J.P. Joly¹, C. Garcia¹, M. Bouchoucha⁴

¹ Ifremer Laboratory of Genetics and Pathology, La Tremblade, France

² Université Montpellier II, UMR 5119 CNRS- Ecosystèmes lagunaires, Montpellier France

³ Ifremer Laboratory Environment and Ressource Provence Azur Corse, Bastia

⁴ Ifremer Laboratory Environment and Ressource Provence Azur Corse, La Seyne/Mer

Marteilia refringens est un parasite protozoaire appartenant au phylum des Cercozoa et qui infecte les épithéliums digestifs de nombreux bivalves dont l'huître plate *Ostrea edulis* et les moules *Mytilus galloprovincialis* et *M. edulis*. Deux types, O et M, ont été précédemment définis sur la base d'un dimorphisme localisé dans la région ITS-1. Le type O est détecté préférentiellement chez l'huître plate et le type M est plus souvent détecté chez les moules. Cependant, la spécificité hôte-type n'est pas stricte et des co- ou cross- infections sont observées. La transmission directe du parasite entre bivalves infectés et naïfs n'est pas possible et des études antérieures réalisées dans les claires ostréicoles en Charente Maritime ont montré que le copépode *Paracartia grani* pouvait être impliqué dans le cycle du parasite.

L'étang de Diana, situé au Nord-Est de la Corse, est un site d'intérêt pour l'étude de la marteiliose en raison de la présence du parasite, d'huîtres plates et de moules méditerranéennes. Afin de suivre le développement de l'infection dans l'étang, des prélèvements de bivalves ont été réalisés mensuellement sur une année et analysés en histologie. De plus, considérant l'implication potentielle d'espèces zooplanctoniques dans le cycle de *Marteilia refringens*, des prélèvements de zooplancton ont été réalisés tous les 15 jours à proximité des bivalves. Ces échantillons ont dans un premier temps été testés en PCR vis-à-vis de la présence du parasite. Les échantillons détectés positifs ont fait l'objet d'un tri d'espèces et ont été analysés en hybridation *in situ*.

Les analyses histologiques ont révélé la présence de *Marteilia refringens* uniquement dans les moules. En effet, aucune huître plate testée n'est apparue infectée. La dynamique du parasite dans les moules et la détection d'ADN de parasite en PCR dans les échantillons de zooplancton suggèrent un passage du parasite des moules vers le compartiment zooplanctonique. Plusieurs espèces du zooplancton ont présenté des résultats positifs en PCR. En revanche une seule espèce a présenté un marquage spécifique en hybridation *in situ* au niveau de la gonade : *Paracartia latisetosa*. Ces résultats laissent penser que différents hôtes intermédiaires puissent intervenir dans le cycle du parasite. Enfin, les moules et certains échantillons de zooplancton positifs en PCR ont fait l'objet de séquençage. Les données obtenues laissent apparaître une diversité des types de *Marteilia refringens* présents dans l'étang. En effet *M. refringens* type M apparaît majoritaire mais d'autres types semblent circuler entre bivalves et zooplancton.

Interactions entre Oe-Gal (*Ostrea edulis* Galectin) et le parasite protozoaire *Bonamia ostreae*

M. Prado-Alvarez, B. Chollet, N. Faury, M. Robert, B. Morga, D. J. Ibara, C. Lupo, T. Renault, **I. Arzul**

Ifremer LGP, Avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade

Bonamia ostreae est un parasite protozoaire affectant l'huître plate *Ostrea edulis*. Ce parasite cible les hémocytes, cellules notamment impliquées dans les mécanismes de défense de l'huître. Une approche d'hybridation soustractive et suppressive avait permis de séquencer et caractériser chez l'huître plate un gène codant une galectine (Oe-Gal) (Morga et al. 2010). La caractérisation de ce gène a permis l'obtention de protéines recombinantes et d'anticorps anti Oe-Gal.

Les interactions entre Oe-Gal et *B. ostreae* ont dans un premier temps été étudiées *in vitro* en mesurant l'internalisation du parasite dans des hémocytes préalablement soumis à différents traitements. Ces traitements ont consisté à incuber les hémocytes en présence d'inhibiteurs de galectine tels que glucose, galactose, Beta-lactose et anticorps anti-Oe-Gal à différentes concentrations. Ces différentes expériences ont généralement conduit à une diminution de l'internalisation du parasite dans les hémocytes. Au contraire, une incubation du parasite en présence de galectine recombinante avant la mise en contact avec les hémocytes a contribué à une augmentation du nombre d'hémocytes infectés.

Ainsi, Oe-Gal semble impliquée dans l'internalisation de *B. ostreae* dans les hémocytes *in vitro*. Cette étude a été complétée par l'analyse d'huîtres plates provenant d'une population infectée par *B. ostreae*. La charge parasitaire ainsi que l'expression de Oe-Gal ont été déterminées pour six organes chez 50 huîtres. Une corrélation positive a été observée entre les deux paramètres mesurés dans les branchies, siège privilégié de l'infection à *B. ostreae*.

Ces résultats contribuent à une meilleure compréhension des interactions entre *Bonamia ostreae* et *Ostrea edulis* et plus particulièrement des mécanismes permettant au parasite de s'installer et de survivre dans les hémocytes.

Morga B, Arzul I, Faury N, Segarra A, Chollet B, Renault T. 2011. Molecular responses of *Ostrea edulis* haemocytes to an *in vitro* infection with *Bonamia ostreae*. [Dev Comp Immunol](#). 35(3):323-33.

POINTS SAILLANTS DES PRESENTATIONS

Lupo: 12

- Nous proposons une évolution à moyen terme de la surveillance de la santé des coquillages marins à l'égard des agents infectieux, ainsi qu'une évolution du positionnement de l'Ifremer dans sa mise en œuvre.
- En élevage conchylicole, la priorité est d'éviter l'apparition d'une maladie exotique ou l'émergence d'une maladie nouvelle car les mesures de lutte sont très limitées une fois que la maladie est présente.
- L'objectif prioritaire de la surveillance épidémiologique est la détection précoce de tout organisme pathogène exotique introduit ou nouveau.
- Une approche réactive, la surveillance événementielle des mortalités de coquillages, permettrait la détection d'une anomalie spatio-temporelle, *i.e.* agrégat ou foyer probable, de la répartition des déclarations obligatoires de mortalité.
- Une approche pro-active, la surveillance planifiée fondée sur le risque d'introduction d'une maladie exotique ou d'apparition d'une maladie émergente, permettrait de maximiser les probabilités de détection en optimisant les moyens dédiés à la surveillance.

Versigny: 13

- Nous étudions le rôle des bactéries appartenant au groupe des *Vibrio splendidus* dans les mortalités anormales de naissain de *Crassostrea gigas* et, plus spécifiquement ici, nous avons analysé un épisode de mortalité au cours du printemps 2011.
- Nous avons démontré l'importance des Vibrios pour la pleine expression de la maladie et constitué une collection de 192 souches dont 95 % appartiennent au groupe des *Vibrio splendidus*.
- Nous avons testé individuellement 32 souches en infection expérimentale sur du naissain naïf et seule 5 % des souches se révèlent virulentes.
- En co-injection, la combinaison 5 % de la souche virulente + 95 % d'une souche non-virulente induit autant de mortalité que la combinaison 100 % de la souche virulente.
- Maintenant, nous étudions les facteurs de virulence (plasmidiques et chromosomiques) de la souche virulente ainsi que le rôle des souches non virulentes (est-il lié au quorum sensing ?)

Travers : 14

- *V. aestuarianus* est une bactérie initialement isolée aux USA, qui a par la suite été détectée en France, en Espagne, en Italie, au Maroc et en Chine.
- *V. aestuarianus* a été isolée dès les années 2000 sur des huîtres moribondes en France et sa pathogénicité a pu être mise en évidence expérimentalement.
- En 2012, *V. aestuarianus* a été détectée dans les 16 lots à mortalité d'huître adultes ayant fait l'objet de saisine par le réseau REPAMO.
- Aux vues de la situation actuelle, différentes hypothèses peuvent être formulées pour tenter d'expliquer ce phénomène : nouveau groupe de *V. aestuarianus*? huîtres plus sensibles? environnement plus favorable au développement de la maladie?
- Les deux premières hypothèses sont actuellement en cours d'étude.

Montagnani : 15

- Dans le contexte d'infections multi-pathogènes récurrentes chez *C. gigas*, nous explorons la question de l'activation et de la spécificité de la réponse immunitaire de l'huître.
- L'activation de la réponse antivirale a été explorée par des expériences d'injection (stimulation ou « priming ») d'un motif moléculaire associé aux infections virales (ARN double brin ou Poly I:C) 24h avant l'injection d'une suspension virale enrichie en OsHV-1 μ var.
- La stimulation par le poly I:C induit chez *Crassostrea gigas* un état antiviral réduisant de façon significative la charge virale chez des animaux exposés à OsHV-1 (89%), contrairement aux contrôles stimulés par injection d'eau de mer ou de vibrios tués.
- La stimulation par le poly I:C induit une augmentation du taux d'expression de gènes de récepteurs (TLR), éléments de voies de signalisation (NF- κ B, IRF) et gènes antiviraux (PKR). **Il existe chez *C. gigas* une réponse antivirale inductible indépendante de la séquence de d'ARN injecté comportant des similitudes frappantes avec la voie des interférons (IFN), caractéristique de la réponse antivirale chez les vertébrés.** Cette approche est actuellement complétée par l'analyse transcriptomique haut débit d'une série de gènes impliqués dans les voies antivirales (autophagie, apoptose, RLR, STAT, RNAi, ...) et antibactériennes mis en évidence dans le génome et le transcriptome de l'huître.

Barbosa : 16

- L'analyse phylogénétique des séquences de trois régions particulières du génome d'OsHV-1 (ORF4, ORFs35-36-37-38 et ORFs42-43) permet de définir différents groupes parmi des échantillons d'origines géographiques/temporelles différentes.
- La collection disponible au laboratoire s'est récemment enrichie d'échantillons d'OsHV-1 collectés dans plusieurs pays: USA, Mexique, Brésil, Tunisie, Corée, Japon, Nouvelle Zélande, Suède, Irlande, Pays-Bas et Espagne.
- L'information générée par l'analyse de ces séquences partielles permet de mieux appréhender la diversité génétique d'OsHV-1 dont il existe de multiples "variants": le virus associé aux phénomènes de mortalité rapportés en Nouvelle Zélande depuis 2010 est ainsi, par exemple, proche d'OsHV-1 μ var mais leurs séquences ne sont pas identiques.
- Une analyse plus détaillée de l'ORF4, très polymorphe, et des ORFs35-36-37-38, fréquemment soumis à des réarrangements, est en cours.
- Une approche épidémiologique pour le traitement de ces données est envisagée afin de tenir compte de la variété des échantillons traités (nombre de séquences/localité, année de collecte, espèce infectée, présence de mortalité, etc.).

Segarra : 17

- Deux familles bi-parentales d'huîtres creuses présentent des résultats contrastés en termes de sensibilité au virus OsHV-1, la famille la moins sensible montrant des mortalités réduites et des quantités d'ADN viral moindres que l'autre famille.
- Il est possible de détecter des ARNs viraux par PCR en temps réel à partir de 12h après infection pour la famille sensible et à partir de 26h pour la famille la moins sensible.
- Des variations de l'expression de certains gènes viraux au cours du temps ont été observées.

- L'étude de l'expression relative du gène codant pour le Myeloid differentiation factor 88 indique que ce gène cellulaire pourrait être un marqueur de l'infection à OsHV-1.
- La sous-expression du gène codant pour le Glypican chez la famille la moins sensible à 26h post-infection laisse suspecter une implication dans la réponse immunitaire de cette molécule face à une infection par OsHV-1.

Renault : 18

- Le transfert effectif de PCR en temps réel pour la détection d'OsHV-1, de *Vibrio splendidus*, de *V. aestuarianus* et de *Nocardia crassostreae* à 8 laboratoires européens et organisation de 3 essais de comparaison inter-laboratoire pour les techniques transférées ont été opérés.
- La recherche ciblée d'agents infectieux chez les huîtres et les moules en utilisant les techniques transférées sur des échantillons collectés en 2011 et 2012 en France, Irlande, Italie, Pays Bas et Espagne a été réalisée.
- Un protocole de RT PCR en temps réel permettant la détection et la quantification d'ARN du virus OsHV-1 a été développé.
- La production effective de familles d'huîtres creuses, a démontré des sensibilités variées aux infections par le virus OsHV-1, *Vibrio splendidus*, *V. aestuarianus* et *V. harveyi*, en conditions de laboratoire.
- La sensibilité aux UVs de *Vibrio splendidus*, *V. harveyi*, *Nocardia crassostreae* et OsHV-1 a été prouvée et des doses spécifiques à utiliser déterminées.

Cholet : 19

- Le parasite protozoaire *Marteilia refringens* présente une dynamique saisonnière chez la moule *Mytilus galloprovincialis* dans l'étang de Diana, Corse, avec des prévalences plus élevées en période estivale.
- Curieusement, sur la période d'étude, les huîtres plates sont apparues non infectées par *Marteilia refringens*.
- Le suivi réalisé en parallèle sur le zooplancton suggère une transmission du parasite des moules vers le compartiment zooplanctonique à la fin de l'été.
- Une fois triées, de nombreuses espèces de zooplancton apparaissent positives en PCR alors qu'une seule espèce de copépode *Paracartia latisetosa* apparaît réellement infectée en hybridation in situ.
- Les analyses moléculaires complémentaires réalisées sur les moules et le zooplancton positifs en PCR révèlent la présence de plusieurs génotypes de parasite dans l'étang, voire dans les mêmes échantillons.

Arzul : 20

- Le gène Oe -Gal (*Ostrea edulis* Galectine) a été complètement caractérisé : il présente des domaines et acides aminés conservés, caractéristiques des galectines en tandem.
- L'exposition des parasites à la protéine recombinante Rec-Oe-Gal semble favoriser l'internalisation du parasite *Bonamia ostreae* dans les hémocytes.
- Au contraire, l'exposition des hémocytes à différents sucres ou à des anticorps anti-Oe-Gal semble freiner l'internalisation du parasite *Bonamia ostreae* dans les hémocytes.
- Oe-GAL est plus exprimée dans les tissus infectés et son expression est significativement corrélée à la charge parasitaire dans les branchies.

- Ainsi Oe-Gal apparaît impliquée dans la reconnaissance et l'internalisation de *Bonamia ostreae* dans les hémocytes. Des questions se posent concernant la spécificité de Oe-Gal vis-à-vis d'autres micro-organismes.

Génétique, Outils omiques

Les modifications qualitatives et quantitatives de la ploïdie, utilisation et potentialités pour l'amélioration et l'étude des génomes des huîtres creuses

A. Benabdelmouna, E. Maurouard, C. Ledu

Ifremer LGP, Avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade

Les modifications qualitatives et quantitatives des génomes peuvent être entreprises via les approches d'hybridation interspécifique et de polyploïdisation qui sont de puissants outils permettant d'explorer au maximum les possibilités d'amélioration et d'étude des génomes des huîtres creuses. Dans ce cadre, nous avons entrepris des travaux de recherche visant à produire des souches hybrides, diploïdes et **allopolyploïdes** dont l'intérêt réside dans le fait qu'ils sont caractérisés par une base génétique élargie bien au-delà du cadre monospécifique (*C. gigas*) et englobant un apport génétique nouveau provenant des autres espèces d'huîtres creuses apparentées. L'exploitation des divers fonds génétiques disponibles élargirait de façon incomparable la base génétique des nouveaux cheptels hybrides, diploïdes et allopolyploïdes, et constituerait l'opportunité de :

- i) Produire un matériel de recherche scientifique inédit pour les thèmes de recherche axés sur les mécanismes de spéciation, d'épigénétique, de génomique structurale et fonctionnelle (organisation des génomes, mécanismes de défense, croissance, gamétogenèse...),
- ii) Mettre en place une stratégie complémentaire aux approches de sélection en cours et qui pourrait être proposée comme réponse alternative face aux crises de surmortalités qui déciment les naissains de *C. gigas*,
- iii) Proposer de nouvelles pistes de diversification de la production ostréicole actuelle qui est basée presque exclusivement sur *C. gigas*.

Nos recherches ont été réalisées à partir de croisements interspécifiques impliquant *Crassostrea gigas* (**huître japonaise**) et deux des espèces d'huîtres creuses qui lui sont apparentées : *Crassostrea angulata* (**huître portugaise**) et *Crassostrea sikamea* (**huître de Kumamoto**). Après validation de nos résultats par les analyses cytogénétiques et de biologie moléculaires nécessaires pour s'assurer de la ploïdie et de la composition génomique des descendants, nous avons entrepris une première caractérisation des performances biologiques des nouveaux cheptels (survie et activité de gamétogenèse). En plus des hybrides interspécifiques diploïdes obtenus, le travail que nous présentons ici relate la première production jamais décrite de souches hybrides **allotétraploïdes** et **allotriploïdes** impliquant d'une part *C. gigas* et, d'autre part, les deux autres espèces d'huîtres creuses apparentées que sont *C. angulata* et *C. sikamea*.

Ces hybrides interspécifiques, diploïdes comme allopolyploïdes, ouvrent de nouvelles perspectives et leur potentiel tant sur les plans de la recherche fondamentale que sur celui de l'intérêt pratique sera caractérisé au travers des études à venir.

Histoire et composante adaptative de l'invasion de l'huître creuse *Crassostrea gigas* en Europe : apports de la génomique des populations

A. Rohfritsch¹, R. Sussarellu², N. Bierne³, A. Huvet², F. Pernet², S. Heurtebise¹, F. Cornette¹, V. Quillien², L. Fast Jensen⁴, **P. Boudry**², S. Lapègue¹

¹ Ifremer, Laboratoire de génétique et pathologie, avenue de Mus de Loup, 17390 La Tremblade

² Ifremer, Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin, Centre de Bretagne, BP 70, 29280 Plouzané

³ ISEM, Département Biologie Intégrative, 1 quai de la daurade, 34200 Sète

⁴ Fisheries and Maritime Museum, DK-6710 Esbjerg V, Denmark

Originaire du nord de l'Asie, l'huître creuse *Crassostrea gigas* a été introduite dans plusieurs pays européens depuis les années 1970. Son caractère invasif a été souligné au cours de la dernière décennie et elle est considérée comme nuisible dans certaines régions (ex. mer des Wadden). Dans le cadre du projet ANR 'Hi-Flo', nous avons étudié la composante adaptative de cette récente expansion de *C. gigas* au nord de l'Europe par une double approche.

Pour quantifier la part adaptative éventuellement liée à la nature invasive de cette espèce, nous avons d'abord utilisé une approche de génomique des populations : le « scan génomique ». De nombreux locus (AFLP, SNPs ou microsatellites), répartis aléatoirement dans le génome, ont été utilisés afin de quantifier la proportion du génome potentiellement affectée par la sélection. Seize populations, réparties de la France (exploitation depuis 40 ans) à la Suède (établissement récent), ont été génotypées. Deux groupes de populations sont distingués : celles nouvellement établies au Nord de la Mer des Wadden et les autres formant un ensemble plus homogène (au Sud de l'Europe et Japon : Fig. 1). Une plus faible diversité génétique est observée au Nord, en lien avec le phénomène d'expansion ou l'origine des huîtres. De plus, certains marqueurs dits « *Fst* outliers » révèlent une structuration différente, regroupant des échantillons en provenance du Danemark et un échantillon des Pays-Bas et le Japon, suggérant (i) une adaptation parallèle aux mêmes pressions environnementales de ces populations ou (ii) l'empreinte d'une introduction secondaire avec un fond génétique différent.

D'autre part, nous avons comparé phénotypiquement des descendance issues de géniteurs de deux populations de chacun des groupes décrits ci-dessus (France, Danemark et hybrides France x Danemark) sur la base de caractères liés à la reproduction (histologie, biochimie et transcriptome de la gonade). La proportion de femelle est supérieure dans la descendance d'origine danoise (28,6 *versus* 42.1%) ce qui pourrait constituer un avantage à la colonisation rapide de nouveaux habitats. L'analyse du transcriptome révèle que 35% des gènes étudiés sont différentiellement exprimés entre mâles et femelles mais seulement 0,2% entre descendance française et danoise. Parmi les 900 gènes (soit 2%) dont l'expression apparaît strictement additive car intermédiaire chez la descendance hybride entre les deux populations étudiées, la majorité des gènes « *Qst* outliers » (c.a.d dont l'expression différencie très fortement les descendance française et danoise) sont différents entre mâles et femelles suggérant que ce type d'étude comparative doit être faite intra-sexe.

Notre double approche génome scan / *Qst* montre que la composante adaptative liée à l'invasion de *C. gigas* en Europe du nord est limitée mais significative. La distinction entre les effets liés à l'origine des stocks introduits et aux phénomènes sélectifs locaux reste à affiner.

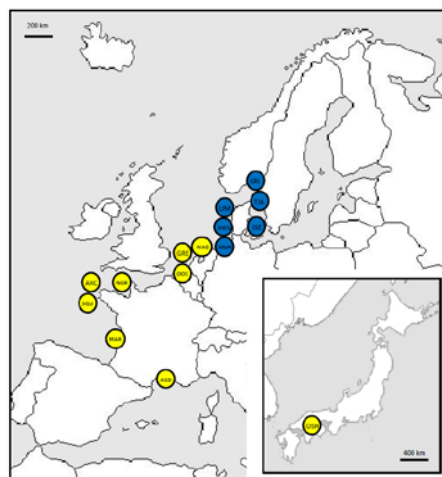


Fig. 1. Populations échantillonnées montrant deux groupes (pastilles jaunes ou bleues)

La protéomique chez *Crassostrea gigas* à l'heure du génome.

C. Corporeau¹, E. Guévelou¹, C. Quéré¹, C. Séguineau¹, B. Petton¹,
J. Normand², J.L. Nicolas¹, M. Boulais¹, M. Suquet¹, G. Vanderplancke³, S. Madec⁴, A.
Huvet¹, P. Boudry¹, Y. Epelboin¹, V. Pichereau⁵, M. Lagarrigue⁶, E. Com⁶, A. Groisillier⁷, M.
Czjzek⁷

¹ Ifremer UMR 6539 LEMAR, RBE-PFOM-PI, Plouzané et Argenton.

² Ifremer ODE-LER Normandie, Port-en-Bessin.

³ Ifremer UMR 6539 LEMAR, RBE-PFOM-ARN, Plouzané.

⁴ IFR148 ScInBioS, Université Européenne de Bretagne, ESMISAB, Biodiversité et Ecologie Microbienne, Plouzané.

⁵ UBO UMR 6539 LEMAR, Institut Universitaire Européen de la Mer, Plouzané.

⁶ Plateforme de protéomique Biogenouest, IRSET-INSERM U1085, Rennes.

⁷ CNRS-Univ Paris VI UMR 7139, Végétaux marins et Biomolécules, Roscoff.

Les bivalves intertidaux sont exposés à une forte variabilité de leur environnement : variabilité temporelle (marée, saison), variabilité spatiale (position sur l'estran), modifications des paramètres physico-chimiques (température, salinité) et exposition à des agressions biotiques (bactérie, virus) ou abiotiques (pesticides, plastiques). Cette grande variabilité des conditions externes module l'expression des fonctions physiologiques et se traduit à l'échelle phénotypique par une importante plasticité.

L'acquisition récente de données génomiques chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* a permis d'étudier des gènes impliqués dans sa physiologie. Des marqueurs moléculaires de survie aux mortalités estivales (Fleury et al., 2009 ; Rosa et al., 2012), de réponse à l'hypoxie (Sussarellu et al., 2011), à la salinité (Zhao et al., 2012), à la température (Cho et al., 2012), et du développement gonadique mâle et femelle (Dheilly et al., 2012) ont été identifiés par puces à ADN et séquençage à haut débit. La publication du génome de *C. gigas* (Zhang et al., 2012; http://gigadb.org/pacific_oyster/) ouvre aujourd'hui de nouvelles perspectives. La protéomique que nous développons chez *C. gigas* s'appuie sur toutes ces avancées récentes.

D'une manière générale, la protéomique permet d'identifier des signaux biochimiques et les réseaux d'interaction dont résulte un phénotype. Dans notre équipe, nous développons plusieurs outils permettant l'extraction, la séparation, l'identification et la quantification des protéines chez *C. gigas*: électrophorèse mono ou bi-dimensionnelle, activité *in vitro* et *in-gel*, western-blot, immunoprécipitation, spectrométrie de masse et protéine recombinante. Ces outils de protéomique, parfois couplés à des approches de génomique fonctionnelle, nous permettent d'étudier les signaux liés à la survie, la gestion de l'énergie et la qualité des gamètes chez l'huître (Fabioux et al., 2009; Huvet et al., 2012; Corporeau et al., 2011, 2012 ; Pernet et al., 2012 ; Guévelou et al., 2012).

POINTS SAILLANTS DES PRESENTATIONS SESSION 4

Benabdelmouna: 21

- Les hybridations interspécifiques et la polyploïdisation sont de puissants outils permettant l'amélioration et l'étude des génomes.
- A partir de croisements interspécifiques impliquant *Crassostrea gigas* (huître japonaise), *Crassostrea angulata* (huître portugaise) et *Crassostrea sikamea* (huître de Kumamoto), nous décrivons l'obtention originale de plusieurs hybrides interspécifiques viables, allodiploïdes et allopolyploïdes.
- Les nouveaux hybrides interspécifiques allodiploïdes, allotriploïdes et allotétraploïdes ont été validés par cytométrie en flux (taille du génome) et par des marqueurs moléculaires, mitochondriaux et nucléaires.
- Les performances biologiques (survie et investissement en gamétogenèse) des divers cheptels ont été caractérisées.
- L'intérêt et les potentialités de ces nouveaux hybrides interspécifiques, tant sur le plan de l'amélioration des espèces que sur celui de la recherche fondamentale, sont présentés et discutés.

Boudry : 22

- La diversité génétique des huîtres creuses en Europe est importante et comparable à celle présente actuellement au Japon.
- La différenciation entre populations récemment implantées au nord de l'Europe et celles présentes au sud depuis l'introduction de *C. gigas* est faible mais significative: deux groupes se distinguent avec une « zone de rupture » au sud du Danemark.
- Des pressions de sélection potentiellement différentes entre mâles et femelles limitent les possibilités d'adaptation génétique entre populations chez cette espèce hermaphrodite alternée.
- Les liens entre la différenciation à des marqueurs neutres et celle mesurée sur des caractères reste à faire.

Lapegue : 23

- Les marqueurs moléculaires développés chez les huîtres plates et creuses peuvent permettre de caractériser la diversité et la connectivité des populations naturelles ou naturalisées.
- Ces mêmes outils peuvent aider au suivi de stocks en élevage et la gestion de programmes de sélection.
- Les nouveaux outils de séquençage à haut-débit peuvent également être utilisés comme des outils de génotypage à haut débit et ainsi permettre de passer à une étape supérieure de la résolution des cartes génétiques et des scans génomiques.

Corporeau : 24

- Le génome de *C. gigas* est publié et nous donne les informations essentielles sur le contenu en gènes de ce modèle de bivalve marin.
- De façon inattendue, l'huître possède le plus grand nombre de gènes anti-apoptotiques, anti-oxydants, et de réponse au stress (88 gènes hsp70).
- Mais ce n'est pas le nombre de gènes qui comptent mais ce que l'on en fait.

- Nous avons alors développé la protéomique pour étudier la fonction des gènes chez *C. gigas* (les protocoles permettent d'analyser les protéines des gamètes, des larves, du naissain et des adultes).
- La protéomique que nous avons développée chez *C. gigas* permet d'étudier les signaux protéiques exprimés en fonction de l'environnement de l'huître.
- Nous étudions si les pathogènes viraux et bactériens peuvent perturber le métabolisme de l'huître en modulant les protéines appartenant aux voies de signalisation intracellulaires de l'huître.

**Influence des facteurs
biotiques et abiotiques du
milieu sur la ressource**

Projet Interreg MICRO Les microplastiques : sont-ils une menace pour la zone des 2 Mers?

R. Sussarellu¹, P. Soudant², C. Fabioux², H. Hégaret², N. Le Goïc², C. Lambert², M. Long², JY Daniel¹, V Quillien¹, C. Quéré¹, Y. Epelboin¹, C. Mingant¹, B. Petton¹, D. Baud¹, I. Quéau¹, P. Le Souchu¹, P. Miner¹, E. Desbruyeres¹, C. Huelvan¹, H. Le Delliou¹, M.M. Le Gall¹, A. Severe¹, D. Mazurais¹, J. Zambonino¹, S. Pouvreau¹, R. Robert¹, C. Corporeau¹, P. Boudry¹, A. Huvet¹

¹ Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin, LEMAR UMR 6539, Centre Ifremer Bretagne, Technopole Brest-Iroise, 29280 Plouzané

² Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin, LEMAR UMR 6539, Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, Rue Dumont d'Urville, 29280 Plouzané

Cette communication a pour objet de présenter succinctement le projet MICRO, financé par l'appel d'offre INTERREG IV A 2 Seas programs, dont l'objectif général est d'estimer si les particules de microplastiques sont un problème pour la zone maritime France-Manche et des deux mers, à savoir mer du Nord et Manche, puis de présenter plus en détails les travaux prévus et débutés sur l'effet des microplastiques sur la physiologie de l'huître *Crassostrea gigas*.

Les plastiques sont des matériaux persistants, qui s'accumulent dans l'environnement marin et peuvent affecter les organismes marins. Bien que les conséquences des débris macroplastiques soient de plus en plus documentées pour la faune marine, les impacts des microplastiques (MP) sont encore très mal connus. Les microplastiques sont généralement définis comme toutes les particules de plastique de moins de 1 mm. Ils peuvent avoir plusieurs origines : abrasifs industriels, exfoliants, produits cosmétiques, pré-production de pastilles plastiques (appelés MP primaires). Les MP secondaires sont des produits de dégradation des macrodéchets de plastique par des forces mécaniques et / ou des processus photo-chimiques. A cela il faut ajouter les rejets de fibres synthétiques issus des lavages qui sont une autre source importante de MP secondaires essentiellement retrouvés dans l'environnement marin côtier. Les MP contiennent non seulement des polluants (additifs tels que stabilisants aux UV, colorants, retardateurs de flamme), mais sont aussi concentrateurs de contaminants organiques persistants et substrats de prolifération microbienne. Toutes ces microparticules de plastiques peuvent être ingérées par les organismes marins, tels que bivalves filtreurs. Néanmoins, les niveaux d'ingestion et les effets indésirables de ces microplastiques sur ces organismes sont encore très mal connus.

Dans ce contexte, le projet MICRO a trois objectifs principaux:

1) la caractérisation de la présence des microplastiques dans la zone France-Manche 2 mers ;
2) l'étude de l'effet des microplastiques sur la biologie des organismes marins en fonction de leur habitat, de leur organisation/classification taxonomique, et de leur mode alimentaire. Un sujet postdoctoral co-financé par ce projet et par l'Ifremer porte sur les "Effets de microplastiques sur la physiologie de l'huître". Ce post-doctorat a pour objet des expositions *in vitro* et *in vivo* de MP sur des huîtres creuses pour mesurer les effets macroscopiques, cellulaires et moléculaires de ces MP chez l'huître ;

3) l'estimation des impacts socio-économiques de la présence de microplastiques dans l'environnement marin.

Le porteur du projet est l'institut belge Agricultural and Fisheries Research (ILVO) en la personne de J. Robbens, et comprend quatre autres partenaires (CEFAS porteur T. Maes, DELTARES porteur M. Van Der Meulen) dont deux français, le CNRS (porteur P. Soudant) et l'Ifremer (porteur A. Huvet).

Étude chez l'huître creuse des anomalies génomiques provoquées par l'exposition à des concentrations environnementales de diuron

A. Barranger^{1,2}, J. Rouxel², R. Brizard¹, E. Maurouard¹, C. Yonneau¹, D. Menard², J. Potier², T. Burgeot², A. Benabdelmouna¹, F. Akcha²

¹ Ifremer LGP, Avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade

² Ifremer LEX, Rue de l'Île d'Yeu, BP 21105, 44311 Nantes Cedex 03

La France est le premier utilisateur de produits phytosanitaires en Europe et le troisième dans le monde (Jacquet *et al.*, 2011). Du fait de cette forte consommation, de nombreux produits agrochimiques se retrouvent ainsi drainés par les bassins versants vers la mer et les océans contaminant ainsi les eaux côtières, notamment les bassins de production conchylicole.

Le projet ANR GIMEPEC « Génotoxicité, IMMunotoxicité et rEprotoxicité des PEsticides chez *Crassostrea gigas* » a ainsi pour objectif d'étudier les effets toxiques directs et indirects des pesticides et plus particulièrement d'un herbicide modèle, le diuron, chez l'huître creuse. Il propose d'étudier plus particulièrement l'impact des atteintes au génome sur les performances physiologiques de l'huître (croissance, reproduction, survie). Les travaux présentés sont le résultat de la première année de la thèse réalisée dans le cadre de ce projet ANR, et concernent plus particulièrement les données issues du volet expérimental.

Au cours d'une première expérimentation réalisée à l'écloserie expérimentale de la Tremblade (expérimentation 1), des géniteurs ont été exposés à des concentrations environnementales de diuron durant la phase sensible de la gamétogénèse. Deux pics d'exposition de 7 jours chacun ont été effectués en début et milieu de maturation à des concentrations de 0.4 µg.L⁻¹ et 0.6 µg.L⁻¹ respectivement. Différents prélèvements ont été réalisés pour le suivi de paramètres moléculaires, biochimiques, cellulaires et physiologiques permettant d'évaluer l'impact de cette exposition sur le génome, le métabolisme, la croissance, l'immunité et la reproduction de l'huître. Une deuxième expérimentation a également été réalisée en exposant cette fois-ci l'huître pendant sa phase sensible de développement embryon-larvaire (expérimentation 2). Un pic de contamination d'une durée de 6 jours à 0.05 µg.L⁻¹ de diuron a ainsi été réalisé dès le début de la fécondation.

Les premiers résultats obtenus au cours de ces expérimentations montrent le caractère toxique de l'herbicide à des concentrations environnementales. Chez les géniteurs exposés (expérimentation 1), le test des comètes a mis en évidence un effet génotoxique du diuron. Cet effet se traduit par un niveau de cassures de brins de l'ADN plus important que ce soit au niveau des cellules de l'hémolymphe des géniteurs exposés que de leurs gamètes. Il y a donc une transmission chez les mâles de matériel génétique endommagé. Cette toxicité se retrouve sur la descendance. Les larves issues des géniteurs exposés au diuron présentent un taux d'anomalies de développement plus élevé (embryotoxicité) ainsi qu'un retard de fixation et de croissance. Les analyses de cytogénétique réalisées grâce à la technique de cytométrie en flux montrent également chez les larves issues des géniteurs exposés au diuron des dommages à l'ADN plus important ainsi que l'apparition d'individus triploïdes en faible quantité.

Lorsque l'huître est exposée pendant sa phase de développement embryon-larvaire (expérimentation 2), des anomalies de développement ainsi qu'une croissance significativement plus lente ont également été observées.

De nombreuses analyses sont actuellement en cours. L'étude des effets sur le matériel génétique sera complétée par des approches de cytogénétique moléculaire (FISH, sperm-FISH), ainsi que par d'autres tests de génotoxicité (Adduits à l'ADN, 8oxodGuo). Les données acquises par les partenaires du projet GIMEPEC devraient permettre d'étudier le lien entre les effets génotoxiques induits et les performances physiologiques de l'huître.

Effets sur l'huître juvénile *Crassostrea gigas*, d'une exposition couplée à un dinoflagellé toxique *Alexandrium catenella* et à des huîtres présumées porteuses de l'herpès virus

M. Lassudrie¹, H. Hegaret¹, P. Miner², C. Lambert¹, J. Le Grand², P. Soudant¹, C. Fabioux¹, N. Le Goic¹, B. Petton², J-L. Nicolas²

¹Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR), IUEM/UBO, Technopole Brest Iroise, Plouzané, France

²Laboratoire de Physiologie des Invertébrés (LPI), IFREMER, Technopole Brest Iroise, Plouzané, France

Depuis 2008, en France, les huîtres juvéniles *Crassostrea gigas* sont soumises à une surmortalité estivale, atteignant jusqu'à 100% des stocks de naissain. L'herpès virus OsHV-1 μ Var, très fréquemment associé à *Vibrio splendidus*, a été identifié comme agent causal principal de ces mortalités massives. Cependant, les facteurs environnementaux, comme les efflorescences toxiques, pourraient jouer un rôle dans la susceptibilité à l'infection.

Le but de ces études était de vérifier, chez des juvéniles d'huître, si l'exposition à *Alexandrium catenella*, un dinoflagellé producteur de toxines paralysantes, induisait une sensibilité plus grande à l'herpès virus et si le portage de ce virus modifiait à l'inverse l'accumulation de toxines.

Lors d'une première expérience effectuée en septembre 2011, des huîtres juvéniles naïves ont été réparties en 4 lots de 3 réplicats et soumises à un flux continu d'eau de mer filtrée complétée en phytoplancton. Elles ont été exposées pendant 9 jours soit à *A. catenella*, soit à des huîtres préalablement immergées en rade de Brest pendant 15 jours afin de les infecter par l'herpès virus, soit aux deux facteurs simultanément. Les huîtres non exposées à *A. catenella* recevaient la même quantité d'un dinoflagellé non toxique, *Heterocapsa triquetra*. A l'issue de l'exposition, l'hémolymphe était ponctionnée, des coupes histologiques sur l'animal entier ont été effectuées, la glande digestive et le manteau ont été prélevés pour quantifier respectivement les toxines algales et l'herpès virus. L'analyse des paramètres hématocytaires a montré des réponses spécifiques de l'exposition soit à *A. catenella*, soit aux huîtres maintenues dans la rade. L'exposition simultanée à *A. catenella* et aux huîtres contaminées a entraîné d'une part des effets additifs, avec une augmentation de la complexité, de la taille et de la production d'espèces réactives de l'oxygène des hémocytes. D'autre part, des effets synergiques ont été observés, avec une augmentation de la mortalité hématocytaire, propres aux huîtres exposées simultanément à *A. catenella* et aux huîtres maintenues dans la rade (Fig.1). De plus, ces huîtres ont accumulé significativement moins de toxines algales, ce qui suggère que des processus liés à la nutrition ont pu être affectés. D'après ces résultats, il apparaît que les huîtres maintenues en rade de Brest pendant quelques semaines auraient été porteuses de pathogènes, qui pourraient avoir été transmis aux huîtres naïves, exposées expérimentalement. Pourtant, la quantification d'OsHV-1 par qPCR montre des taux d'infection très faibles, ainsi le virus ne semble pas impliqué dans ces réponses. L'agent pathogène supposé responsable de ces effets reste encore de ce fait à être identifié.

L'expérience a été réitérée en juillet 2012, suivant le même plan expérimental. Les premières quantifications virales indiquent qu'une partie des huîtres immergées dans la rade de Brest étaient fortement infectées par l'herpès virus (10^5 copies.mg⁻¹ chair), suggérant une probable transmission aux huîtres « naïves » exposées expérimentalement. L'accumulation toxinique et l'infection virale seront déterminées, à l'échelle individuelle, afin d'évaluer les effets de l'algue toxique sur la transmission et l'intensité de l'infection. Ces résultats seront couplés aux réponses physiologiques (expression de gènes, histopathologie), afin de déterminer de potentiels effets synergiques. Enfin, la comparaison des résultats des expériences de 2011 et 2012 donnera un complément d'informations pour l'interprétation de ces résultats.

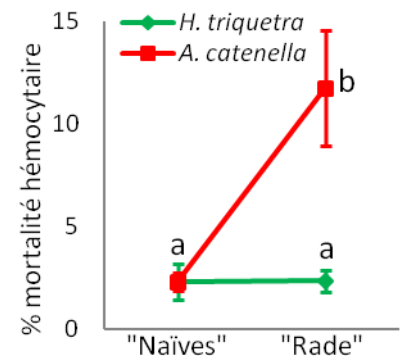


Fig. 1. Mortalité des hémocytes. « Naïves » : huîtres naïves. « Rade » : huîtres en contact avec des huîtres immergées en rade de Brest. a et b indiquent des différences significatives (ANOVA par permutations). Barres d'erreurs : erreurs standards.

Effets de l'algue toxique *Alexandrium catenella* sur le système de défense de l'huître creuse *Crassostrea gigas*.

W. Medhioub¹, M. Duchiron¹, E. Masseret¹, V. Savar², Z. Amzil², M. Laabir¹, **J.L. Rolland¹**

¹ Ifremer, Université Montpellier 2, Centre National de la Recherche Scientifique, IRD, UM1, UMR 5119 "Ecologie des Systèmes Marins Côtiers", Place E. Bataillon, CC93, 34095 Montpellier cedex 5, France.

² Ifremer, Département Environnement, Microbiologie et Phycotoxines (EMP/PHYC), Rue de l'Île d'Yeu BP 21105 44311 Nantes CEDEX 3, France.

A ce jour, les principales études concernant les microalgues productrices de toxines ont porté sur les effets de leurs toxines sur la physiologie des bivalves (Landsberg, 2002 ; Glibert, 2005 ; Rolland et al, 2012). A l'inverse, les effets de ces efflorescences toxiques sur les systèmes de défense des bivalves restent encore méconnus et peu étudiés (Hégaret et al, 2011).

Dans le cadre du projet Gigatox (projet EC2CO Cytrix 2011-2012) nous avons, pour la première fois, mis en évidence des phénomènes apoptotiques chez *Crassostrea gigas* lorsque celle-ci est en contact avec des concentrations de l'algue toxique *Alexandrium catenella* similaires à celles observées *in situ* en période d'efflorescence. Nous avons observés dans la glande digestive de l'huître: (i) De la dégradation et de la condensation nucléaire (marquage TUNEL), (ii) La libération de cytochrome C des mitochondries dans le cytoplasme (marquage anticorps) et (iii) La modulation de l'expression de 8 gènes (QPCR) codant des protéines connues pour être impliquées dans l'une des voies de signalisation de l'apoptose. **C'est, à notre connaissance, la première fois que l'on montre que la défense de l'huître est fortement affectée par la présence d'algue toxique dans le milieu.** L'apoptose est un mécanisme actif de mort cellulaire programmée qui se produit lorsque les cellules sont endommagées ou lors de réactions immunitaires (Elmore, 2007). Au travers du nouveau projet APOTOX, on se pose la question de savoir si tel dysfonctionnement peut avoir des conséquences sur la capacité de résistance des huîtres aux infections microbiennes.

Réponse physiologique et activation de la voie du glutathion de l'huître *Crassostrea gigas* en réponse à une exposition au dinoflagellé toxique *Alexandrium minutum*

C. Fabioux, Y. Sulistiyani, H. Haberkorn, H. Hégaret, N. Le Goïc, C. Lambert, P. Soudant

LEMAR - UMR 6539 - Institut Universitaire Européen de la Mer, Place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané.

Les côtes françaises sont régulièrement touchées par des efflorescences toxiques, notamment des dinoflagellés du genre *Alexandrium* qui produisent des toxines paralysantes (PST). Ces PST bloquent la conduction dans les fibres nerveuses et musculaires en se fixant sur le canal sodium voltage dépendant (Cestèle and Catterall, 2000). Ainsi, la consommation de mollusques bivalves contaminés, principaux vecteurs de PST, représente un risque sanitaire majeur. L'étude des processus d'accumulation et de l'effet sur la physiologie de ces toxines, chez les bivalves, est essentielle pour améliorer la caractérisation et la prévention des risques pour la santé humaine.

Une expérience d'exposition de *Crassostrea gigas* à une souche toxique d'*Alexandrium minutum*, répétée quatre fois, a permis de mieux caractériser la réponse physiologique de l'huître à cette espèce de dinoflagellé. Cette communication a pour objectifs :

1) de faire un rappel des principaux résultats de ces expérimentations, concernant les analyses du comportement valvaires, de cytologie et d'histologie ainsi que du système immunitaire (Haberkorn *et al.*, 2010a; Haberkorn *et al.*, 2010b)

2) de présenter les nouveaux résultats concernant l'effet de ces expositions à *A. minutum* sur le système enzymatique antioxydant de l'huître (catalase, superoxyde dismutase cytoplasmique et extracellulaire, ferritine, glutathion réductase (GR), glutathion peroxydase (GPX), glutathion S transférase (GST)).

Les principaux symptômes résultant de l'exposition de *C. gigas* à *A. minutum* sont une augmentation de la production de mucus dans les branchies traduisant certainement une irritation des tissus et/ou une réaction de défense (Haberkorn *et al.*, 2010a), une modification du comportement valvaire en relation avec la modification de transmission du signal musculaire (Tran *et al.*, 2010), une myo-dégénérescence du muscle adducteur probablement associée à une paralysie musculaire et qui pourrait expliquer en partie les variations de l'activité valvaire décrite ci-dessus (Haberkorn *et al.*, 2010a). Une forte réaction inflammatoire a été observée dans la glande digestive après l'ingestion d'*A. minutum*, caractérisée par une agglutination massive d'hémocytes autour du tractus digestif (estomac, intestin et tubules digestifs) ainsi qu'un phénomène de diapédèse dans l'épithélium digestif (Haberkorn *et al.*, 2010a). Cette réaction inflammatoire correspondrait à une activation du système immunitaire de l'huître. En parallèle, l'activité de phénoloxydase et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les hémocytes ont été affectées suggérant une modification du métabolisme oxydatif résultant de l'exposition à *A. minutum* (Haberkorn *et al.*, 2010b).

L'étude transcriptomique du système enzymatique antioxydant révèle une augmentation significative de la quantité d'ARNm des gènes codant pour la GR et la GST chez les huîtres exposées à *A. minutum* comparées aux témoins nourries avec *T. Iso*. Ce résultat met en évidence l'importance du métabolisme du glutathion dans la réponse de l'huître aux micro-algues productrices de PST. Deux hypothèses, non exclusives, peuvent être formulées concernant ici le rôle de la voie du glutathion: le glutathion et les enzymes associées peuvent agir directement sur la détoxification des ROS ou/et la voie du glutathion est activée en tant que système de détoxification métabolique des PST.

POINTS SAILLANTS DES PRESENTATIONS SESSION 5

Sussarellu : 25

- Un projet Interreg IV A '2 mers' intitulé MICRO a été démarrée fin 2012.
- Un inventaire de la présence des microplastiques (MP) dans la Manche, la Mer du Nord, la mer d'Iroise et la rade de Brest sera réalisé.
- L'étude expérimentale des effets des MP sur la physiologie de plusieurs espèces marines dont l'huître et le bar est programmée et sera conduit par notre unité (PFOM)
- Une estimation des impacts socio-économiques de la présence de ces microplastiques dans cette zone maritime sera disponible en fin de projet (2016).

Baranger : 26

- Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet ANR GIMEPEC qui a pour but d'étudier les effets directs et indirects d'un herbicide, le diuron, chez *Crassostrea gigas* et tout particulièrement d'en étudier l'incidence sur le génome des géniteurs et la possible transmission d'anomalies génomiques à la descendance.
- Les premiers résultats montrent le caractère génotoxique de l'herbicide à des concentrations environnementales sur les géniteurs, que ce soit au niveau des cellules de l'hémolymph, qu'au niveau de leurs gamètes.
- La transmission de matériel génétique endommagé pourrait expliquer les effets toxiques observés sur la descendance: effet embryotoxique sur les larves (anomalies larvaires) et génotoxique sur les naissains (aneuploïdie : diminution de la taille du génome par perte d'ADN).
- Le taux d'anomalies génomiques observé sur les naissains issus de géniteurs exposés (15%) est comparable à celui fréquemment retrouvé dans le milieu naturel au niveau des bassins conchylicoles les plus exposés à la contamination chimique du milieu.
- La prochaine étape sera de déterminer s'il existe une corrélation entre ces anomalies génomiques et les capacités physiologiques du naissain en terme de croissance, survie et reproduction.

Lassudrie : 27

- Les effets isolés puis couplés d'une microalgue toxique *Alexandrium catenella* et d'un pathogène, l'herpès virus, sur les réponses physiologiques de juvéniles d'huîtres *Crassostrea gigas* ont été étudiés dans le présent travail.
- Les microalgues toxiques étaient fournies en tant que source alimentaire. Les pathogènes devaient être transmis par des huîtres maintenues deux semaines en rade de Brest, théoriquement vectrices de l'herpès virus.
- Lors d'une exposition à *A. catenella*, les hémocytes et les céroïdes (pigments constituées de molécules oxydées) semblent participer à la détoxification des toxines.
- L'exposition aux huîtres « porteuses » a induit une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène, de la taille et de la complexité des hémocytes, pouvant traduire une réponse immunitaire, bien que la contamination à l'herpès virus n'ait pu être détectée.
- Des effets synergiques de la double exposition (microalgues toxiques + huîtres « porteuses ») ont été observés sur l'accumulation des toxines et sur la mortalité hémocytaire.

- Ces effets indiquent une probable infection par des pathogènes, transmis via les huîtres « porteuses » immergées en rade de Brest.
- L'identification de ces potentiels pathogènes nous permettrait de déterminer si la réponse des huîtres à l'exposition au dinoflagellé toxique *A. catenella* peut dépendre de leur état pathogénique.

Rolland : 28

- Une augmentation des phénomènes d'apoptose dans la glande digestive de *Crassostrea gigas* mise en contact avec l'algue toxique *Alexandrium catenella* à des concentrations similaires à celles observées in situ en période d'efflorescence a été relevée.
- Une activation de la voie intrinsèque (mitochondriale) de l'apoptose a été constatée via une augmentation de la production de ROS, une augmentation de l'expression du gène codant la protéine BAX (protéine qui induit la libération du cytochrome C des mitochondries dans le cytoplasme), une baisse du marquage du cytochrome C des mitochondries (libéré probablement dans le cytoplasme pour activer la formation de l'apoptosome), une augmentation de l'expression du gène codant la procaspase 3/7 (protéine effectrice qui est activée par l'apoptosome) et observation de dégradation et condensation nucléaire (apoptose).

Perspectives : Evaluer si ces phénomènes peuvent contribuer aux mortalités d'huîtres observé dans la lagune de Thau.

Fabioux : 29

- Nous étudions l'effet des efflorescences toxiques de dinoflagellés sur l'état de santé général, le comportement et la physiologie des bivalves d'intérêt aquacole.
- Les principaux symptômes résultant de l'exposition de *C. gigas* à *A. minutum* sont une perturbation du comportement valvaire, une augmentation de la production de mucus dans les branchies (irritation et/ou réaction de défense) et une myo-dégénérescence du muscle adducteur, une forte réaction inflammatoire dans la glande digestive (agglutination et diapédèse d'hémocytes), une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et une activation de l'expression des gènes de la GR et de la GST, potentiellement impliqués dans la détoxification des ROS ou/et des PST.
- Au-delà des problèmes sanitaires associés à la contamination des huîtres par les PST, l'impact des efflorescences d'*Alexandrium* sp. sur l'ostréiculture (survie, croissance, recrutement) reste à établir et à pondérer.

Hess : 29bis (résumé 11 à l'origine) mais remis dans sa session d'origine

- Des montants significatifs de phycotoxines peuvent se trouver dans la phase dissoute dans l'eau de mer (comme montré par nos études d'échantillonnage passif).
- Les toxines dissoutes sont a priori bio-disponibles et les toxines dissoutes sont accumulées par les mollusques bivalves.
- L'exposition in vivo de la moule au dinoflagellé *Azadinium spinosum* a engendré plusieurs effets négatifs visibles à la fois dans les tissus et le comportement

alimentaire de la moule : amincissement des parois de tubule de la glande digestive, mortalité (augmentation de 2 à 12 %), réduction rapide (6h) et totale d'alimentation

- Dans le poisson medaka (*Oryzias latipes*), la micro-injection d'azaspiracide (toxine lipophile produite par *Azadinium spinosum*) dans les œufs de poisson a dramatiquement affecté l'évolution embryonnaire avec une réduction totale de l'éclosion et une diminution du battement de cœur.

Perspectives : Les effets des microalgues sur les organismes aquatiques sont généralement sous-estimés et devrait être étudiés de manière plus approfondie.

Physiologie de la nutrition et de la reproduction

Les besoins nutritionnels des larves de *C. gigas* : pour qui somme le gras ?

F. da Costa¹, B. Petton¹, G. Bougaran², J.P. Cadoret², C. Quéré¹, P. Soudant³, R. Robert¹

¹ Ifremer, Laboratoire des sciences de l'Environnement Marin (UMR 6539, LEMAR) 29280 Plouzané, France

² Ifremer, Laboratoire Physiologie et Biotechnologies des Algues, Rue de l'île d'Yeu, BP 21105, 44311 Nantes cedex 3, France

³ Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR), IUEM/UBO, Technopole Brest Iroise, Plouzané, France

Lorsque les critères de taille et de digestibilité sont respectés, la valeur alimentaire d'une microalgue est déterminée par sa composition biochimique. Chez *Crassostrea gigas* les triglycérides (TAG, lipides neutres), constituent la ressource énergétique principale, très facilement mobilisable, pour les larves (Ben Kheder et al., 2010) tandis que l'EPA (20 :5(n-3)) et le DHA (22 :6(n-3)) dans les lipides membranaires conditionnent la croissance et la survie (Rico-Villa et al., 2006) et les différentes phases critiques du développement larvaire (embryogenèse, métamorphose). Or, si ces acides gras (AG), dits essentiels, sont indispensables, un apport en excès d'EPA génère des malformations chez les larves de bar (Gisbert et al., 2005). Faute d'outils adaptés, de telles données n'existent que partiellement chez les larves de mollusques. Néanmoins, la mise au point de la technique en flux ouvert a permis de garantir les besoins quantitatifs et d'aborder, sans biais, les aspects qualitatifs. L'influence d'une alimentation riche en lipides a été étudiée dans le présent travail. *Isochrysis affinis galbana* (T+) obtenue par mutation génétique, récoltée en phase stationnaire (10^e jour), et générant ainsi un taux de lipides environ deux fois supérieur (Bougaran et al., 2012), a été apportée à des larves de *C. gigas* à raison de 1500 µm³ µl⁻¹. Parallèlement la valeur alimentaire de cette même espèce (T), non sélectionnée (CCAP 927/14), prélevée en phase exponentielle a été estimée. L'influence de leur association avec la diatomée *Chaetoceros gracilis* (UTEX LB2658) a été également abordée.

Les résultats montrent que l'élevage témoin (TCg) présente au 15^e j la meilleure survie (81 %), un taux de croissance de 19 µm j⁻¹, une compétence à la métamorphose de 89 % et un taux de fixation de 60 %. Les larves nourries sur la seule *I. aff. galbana* (T) se caractérisent au 15^e j par une moindre survie (61 %) une croissance inférieure (12,6 µm j⁻¹) une absence de larves compétentes, dont le pourcentage atteint néanmoins 50 % au 19^e j, et un taux de métamorphose de 30 %. Ces performances sont cependant très largement supérieures à celles obtenues avec T+ qui ne permet pas aux larves de survivre au-delà du 15^e j. Cette altération du développement larvaire est rapide puisqu'au 8^e j seules 45 % des larves survivent en présentant un taux de croissance de 3.5 µm j⁻¹, performances très peu différentes de celles enregistrées chez des larves maintenues à jeun. Lorsque cette dernière est associée à *C. gracilis* un meilleur développement larvaire est observé qui reste néanmoins inférieur (45% de survie au 15^e j et taux de croissance de 8.5 µm j⁻¹) à celui obtenu avec TCg, voir T seul. Des résultats similaires ont été obtenus au cours d'une deuxième expérimentation.

Par rapport à la souche normale (T), la souche T+ est respectivement trois à quinze fois plus riche en acides gras totaux (AGT) et TAG. La souche T+ présente de fortes teneurs en AG saturés et mono insaturés, principalement représentés par 14 :0, 16 :0 et 18 :1(n-9) (72% des AGT) tandis que T se caractérise par la présence de 18 :4(n-3) et de DHA en plus fortes proportions. La composition en AG des larves est étroitement liée à celle des microalgues. Ainsi, des niveaux élevés de DHA et 18 :4(n-3) sont retrouvés dans les lipides neutres et polaires des larves nourries avec la seule souche T. La quantité d'AGT et TAG des microalgues est inversement corrélée avec la croissance et survie larvaires aux 8^e et 15^e j. Les calculs d'assimilation des acides gras révèlent que les larves nourries avec des microalgues pauvres en 20 :4(n-6) (AA) et EPA (comme dans la souche T), seraient capables de synthétiser de novo ces acides gras au cours de la deuxième semaine. Les larves recevant TCg ne semblent synthétiser que l'acide arachidonique également au cours de la deuxième semaine. L'EPA étant apportée par Cg, sa synthèse si elle existe ne peut être mise en évidence avec ce régime.

Si ces capacités de synthèse se confirmaient par d'autres approches biochimiques, cela devra être pris en compte dans la définition future des régimes alimentaires des larves d'huître en éclosion. Néanmoins, ces capacités (si elles étaient attestées) semblent clairement insuffisantes dans le cas du régime T+, pauvre en AGPI et notamment en précurseurs de ces gras essentiels.

Quantification du bol alimentaire des bivalves par une approche moléculaire

M. Alunno-Bruscia¹, K. S. Skaar², V. Tronci², T. Magnesen³, Ø. Strand⁴, A. Huvet⁵, C. Troedsson²

¹ Ifremer – UMR 6539, 11 presqu'île du Vivier, 29840 Argenton-en-Landunvez, France

² Uni Research AS, Thormøhlensgate 55, 5020 Bergen, Norvège

³ University of Bergen, Thormøhlensgate 53B, 5020 Bergen, Norvège

⁴ Institute of Marine Research, Post boks 1870 Nordnes, 5817 Bergen, Norvège

⁵ Ifremer – UMR 6539, B.P. 70, 29280 Plouzané, France

Identifier facilement et estimer quantitativement les préférences alimentaires des bivalves est primordial à la fois dans un contexte écologique, pour mieux comprendre l'impact de stocks de bivalves (sauvages ou cultivés) sur les écosystèmes, et également dans un contexte économique pour garantir la production de naissain en conditions contrôlées (*e.g.* éclosion, nurserie) et l'implantation d'une conchyliculture durable en milieu naturel. Cependant, aucun des marqueurs trophiques disponibles à l'heure actuelle (*e.g.* chlorophylle *a*, phytoplancton, isotopes) ne permet une quantification directe des proies consommées par les bivalves, à moins qu'ils ne soient couplés à des mesures écophysiologicals *in situ* (*e.g.* ingestion, efficacité d'absorption) qui ne sont pas toujours faciles à mettre en œuvre en milieu naturel.

Récemment, l'utilisation de marqueurs moléculaires pour identifier et quantifier les proies ingérées par certains groupes de zooplancton marin (copépodes, appendiculaires) et de crustacé benthique (homard) ont apporté des résultats prometteurs. Ces outils reposent sur la PCR semi-quantitative (qPCR) pour cibler les gènes spécifiques de proies (*e.g.* SSU rDNA ou COI) dans l'estomac et ou les bio-dépôts (pelotes fécales) de prédateurs. Pour corriger l'effet de la digestion sur l'ADN, la méthode de qPCR-dla (à amplification de longueur différentielle) a été testée sur des appendiculaires avec des résultats encourageants. Le but de notre étude était de tester ces outils pour identifier et quantifier les proies (micro-algues principalement) de bivalves (moules, huîtres, coquilles St Jacques).

Nous avons mesuré et quantifié à l'aide de ces marqueurs la prise alimentaire de bivalves selon un plan d'expérience croisant deux espèces de diatomées (*Rhodomonas salina*, *Skeletonema marinoi*) à deux concentrations (15 cellules/ μ L vs 3 cellules/ μ L) pour nourrir quatre espèces de bivalves (*Crassostrea gigas*, *Ostrea edulis*, *Mytilus edulis*, *Pecten maximus*) soumises à deux « histoires alimentaires » différentes (animaux à jeun vs animaux pré-nourris). Nos résultats montrent que : *i*) des amorces 18S d'ARN ribosomal ont été conçues et optimisées pour trois espèces de diatomées (*Rhodomonas salina*, *Skeletonema marinoi*, *Chaetoceros gracilis*) ; *ii*) le stylet cristallin et le bouclier gastrique sont, pour toutes les espèces de bivalves testées dans le projet (huîtres creuse et plate, moule bleue, coquille St Jacques) les deux organes les plus fiables et les plus appropriés (force et reproductibilité des analyses moléculaires) pour estimer par qPCR la quantité de cellules algales présentes dans le système digestif d'un bivalve ; *iii*) la méthode de qPCR testée est sensible à la concentration en nourriture disponible, avec un nombre estimé de cellules algales plus important dans le stylet cristallin des individus soumis à une forte concentration en nourriture versus les individus soumis à un faible niveau de nourriture ; *iv*) il se produit une digestion partielle de l'ADN des algues dans le système digestif des bivalves, comme révélée par la méthode dla-qPCR ; cette digestion partielle varie en fonction des espèces de bivalves et de leur « histoire alimentaire » (animaux à jeun ou pré-nourris). Il est primordial de tenir compte de cette digestion partielle pour faire de ces marqueurs moléculaires des marqueurs quantitatifs fiables. La prochaine étape va consister à tester ces marqueurs moléculaires en milieu naturel pour valider leur efficacité à capturer la variabilité spatiale et temporelle du bol alimentaire des bivalves dans les écosystèmes côtiers.

Caractéristiques biologiques du sperme d'huître creuse (*Crassostrea gigas*) et relation avec son pouvoir fécondant

M. Boulais¹, N. Le Goïc², M. Suquet¹, C. Quéré³, P. Boudry³, F. Pernet³, P. Soudant²

¹ Ifremer, UMR 6539, LEMAR, Station Expérimentale d'Argenton, 11 Presqu'île du Vivier, 29840 Argenton

² Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin, LEMAR UMR 6539, Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, Rue Dumont d'Urville, 29280 Plouzané

³ Ifremer, UMR 6539, LEMAR, Centre de Brest, 29280 Plouzané

Une meilleure maîtrise de la qualité des gamètes de mollusques doit améliorer la compréhension des processus de recrutement et fiabiliser les productions de naissains, accompagnant le recours croissant de la filière ostréicole aux productions des écloséries. L'objectif du présent travail est de décrire quelques-unes des caractéristiques biologiques du sperme d'huître creuse et de mettre en évidence d'éventuelles corrélations avec son pouvoir fécondant.

Des huîtres de 2 ans ont été collectées dans la rade de Brest durant la période de reproduction. Les gamètes ont été récoltés individuellement par scarification de la gonade (n=22). Les caractéristiques biologiques des spermatozoïdes ont été décrites par 12 paramètres (cellulaires, biochimiques, pourcentage de spermatozoïdes mobiles et vitesse de déplacement, taux de développement embryonnaire). Les corrélations possibles entre ces paramètres ont été recherchées ($P < 0.05$).

Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles est corrélé positivement à la taille ($R^2=0,30$), à la complexité intracellulaire relative ($R^2=0,22$), au pourcentage de gamètes possédant des mitochondries fonctionnelles ($R^2=0,29$) et à la vitesse de déplacement ($R^2=0,34$) des spermatozoïdes. La taille des spermatozoïdes est corrélée positivement à leur complexité intracellulaire relative ($R^2=0,62$) et à la respiration mitochondriale ($R^2=0,27$). Les spermatozoïdes les plus motiles semblent donc être les gamètes les plus grands, les plus complexes, les plus rapides et appartenant aux échantillons dans lesquels on observe une proportion importante de gamètes avec des mitochondries actives. Le pourcentage de spermatozoïdes présentant des mitochondries fonctionnelles est également corrélé positivement au contenu intracellulaire en ATP ($R^2=0,34$). Ces résultats suggèrent que la motilité du sperme dépend de ses caractéristiques énergétiques et morphologiques.

Une forte variabilité individuelle du taux de développement embryonnaire (mesuré au stade trochophore) est observée (de 6 à 65%). Le taux de développement embryonnaire n'est pas corrélé au pourcentage de spermatozoïdes mobiles. Mais, il est corrélé positivement au contenu en ATP intracellulaire ($R^2=0,55$) et à la respiration mitochondriale ($R^2=0,54$). Ces deux derniers paramètres expliquent 60% de la variabilité du taux de développement embryonnaire. La capacité de fécondation des spermatozoïdes est donc dépendante de l'énergie disponible et du bon fonctionnement des mitochondries.

La mesure simultanée des caractéristiques biologiques du sperme d'huître creuse présentée dans ce travail n'est pas disponible dans la littérature scientifique. Le pouvoir fécondant des gamètes mâles peut être estimé par le contenu en ATP intracellulaire et la respiration mitochondriale des spermatozoïdes. Les meilleures corrélations obtenues en combinant les variables confirment l'importance d'une évaluation multi-paramétrique de la qualité des gamètes.

Suivi temporel de la gamétogenèse de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, par IRM et détection de régions du génome (QTLs) impliquées dans l'effort de reproduction

E Flahauw¹, A. Davenel², S. Quéllec², P.J. Hatt¹, V. Quilien³, A. Huvet³, S. Lapegue¹

¹ Ifremer, LGP, Avenue de Mus de Loup, 17390 La Tremblade, France

² Irstea, IRMFood, 17, avenue de Cucillé, 35044 Rennes Cedex & Université Européenne de Bretagne, France

³ Ifremer, LPI, Ifremer - Centre Bretagne - BP 70, 29280 Plouzané, France

Des études précédentes ont révélé que des familles présentant des performances de survie aux mortalités estivales contrastées (Dégremont et al., 2007) présentaient également des niveaux d'effort reproducteur différents (Samain et al., 2007; Huvet et al., 2010). C'est pourquoi une meilleure caractérisation de ce phénotype semble importante afin de mieux comprendre le comportement physiologique des huîtres au cours d'un épisode de mortalités estivales. Cette étude a donc pour objet la détection de QTLs impliqués dans l'effort reproducteur et leur possible colocalisation avec ceux affectant la survie précédemment détectés (Sauvage, 2008).

D'une part, la détection de QTLs nécessite la production et la caractérisation phénotypique d'un matériel biologique particulier. C'est pourquoi 21 familles F2 ont été produites et caractérisées pour la survie en 2010. Trois de ces familles F2 présentant des taux de mortalité différents (faible, intermédiaire et élevé) ont été choisies pour caractériser l'effort reproducteur en 2011. Pour deux d'entre elles, l'effort reproducteur a été étudié par histologie (Fabioux et al., 2005). Pour la troisième, cette caractérisation a été faite à l'aide de l'IRM après qu'une forte corrélation a été mise en évidence entre les estimations de surface et de volume gonadique par IRM et la surface gonadique mesurée par histologie (Flahauw et al., 2012). Trois cent huîtres ont été imagées à huit reprises d'avril 2011 à juin 2012 (figure 1).

Ceci a permis de sexer chaque huître et de caractériser la précocité et la durée de la maturation de la gonade, la période de ponte, l'évolution du volume de chair et d'un organe somatique, le muscle adducteur, et d'observer d'éventuels changements de sexe au cours de l'année, mais aussi entre la première et la deuxième année de reproduction.

D'autre part, la détection de QTLs a nécessité l'utilisation d'une carte génétique élaborée à partir du génotypage pour 38 marqueurs microsatellites et 384 marqueurs SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) de 300 individus pour chacune des 3 familles F2. L'analyse conjointe des génotypes et des phénotypes a permis de détecter des QTLs impliqués dans différents aspects qualitatifs de la reproduction mais aussi l'aspect quantitatif de l'effort reproducteur.

Figure 1. Exemple d'images obtenues par IRM de 4 huîtres creuses au cours des séances d'avril 2011 à juin 2012.

	M-M	M-F	F-F	F-M
Avril				
Mai				
Juin				
Juillet				
Août				
Octobre				
Avril				
Juin				

POINTS SAILLANTS DES PRESENTATIONS SESSION 6

Fiz da Costa: 30

- L'influence d'une alimentation riche en lipides sur les performances larvaires de *Crassostrea gigas* a été étudiée ici.
- La technique d'élevage larvaire en flux ouvert utilisée dans cette étude a permis de calculer l'ingestion de microalgues et l'assimilation des acides gras chez les larves.
- L'excès de triglycérides et d'acides gras totaux d'*Isochrysis affinis galbana* riche en lipides (T+) expliquent probablement la faible performance biologique des larves recevant cette algue.
- Ce travail semble montrer une synthèse de 20:4(n-6) (ARA) et 20:5(n-3) (EPA) chez les larves recevant des régimes appauvris en ces deux acides gras, probablement par activité de la $\Delta 5$ désaturase.
- S'il est confirmé, ce fait est remarquable car il pourrait représenter entre 30 et 50% d'activité en fonction de l'acide gras considéré et confirme ainsi, que les larves d'huître creuse sont sous la dépendance de besoins essentiels.

Alunno-Brushia: 31

- Nous avons utilisé des marqueurs moléculaires pour identifier et quantifier les proies (micro-algues) de plusieurs espèces de bivalves. Ces outils, testés sur des copépodes, reposent sur la PCR semi-quantitative (qPCR) pour cibler les gènes spécifiques de proies (e.g. SSU rDNA ou COI) dans le système digestif de prédateurs. Pour corriger l'effet de la digestion sur l'ADN, la méthode de qPCR-dla (à amplification de longueur différentielle) a aussi été testée.
- Des amorces 18S d'ARN ribosomal ont été conçues et optimisées pour deux espèces de diatomées (*Rhodomonas salina*, *Skeletonema marinoi*).
- Le stylet cristallin et le « bouclier gastrique » sont, pour toutes les espèces de bivalves testées (huîtres creuse et plate, moule bleue, coquille St Jacques) les deux organes les plus fiables et les plus appropriés (force et reproductibilité des analyses moléculaires) pour estimer par qPCR la quantité de cellules algales présentes dans le système digestif d'un bivalve.
- La méthode de qPCR testée est sensible à la concentration en nourriture disponible, avec un nombre estimé de cellules algales plus important dans le stylet cristallin des individus soumis à une forte concentration en nourriture versus les individus soumis à un faible niveau de nourriture.
- Une digestion partielle de l'ADN des algues se produit dans le système digestif des bivalves, comme révélée par la méthode dla-qPCR ; cette digestion varie en fonction des espèces de bivalves et de leur « histoire alimentaire » (animaux à jeun ou pré-nourris). Il est primordial de tenir compte de cette digestion partielle pour faire de ces marqueurs moléculaires des marqueurs quantitatifs fiables.

Boulais: 32

- Quelques caractéristiques biologiques du spermatozoïde d'huître creuse sont décrites dans ce travail, et mises en relation avec son pouvoir fécondant.
- Le mouvement des spermatozoïdes est dépendant de ses caractéristiques morphologiques et énergétiques.

- Les caractéristiques énergétiques du gamète mâle sont fortement corrélées à son pouvoir fécondant.
- Ces travaux seront poursuivis par l'étude du métabolisme énergétique du spermatozoïde d'huître creuse.

Flahauw: 33

- L'Imagerie par Résonance Magnétique, non destructive, permet de caractériser plusieurs paramètres en particulier ceux liés à la reproduction (sexe et changements de sexe, précocité et durée de la maturation de la gonade, période de ponte, évolution du volume de différents organes).
- Les caractères phénotypiques mesurés peuvent être reliés à des zones du génome de l'huître par analyse QTLs.
- La disponibilité du génome de l'huître et les NGS devraient permettre d'affiner les zones du génome liées à des caractères liés à la reproduction.