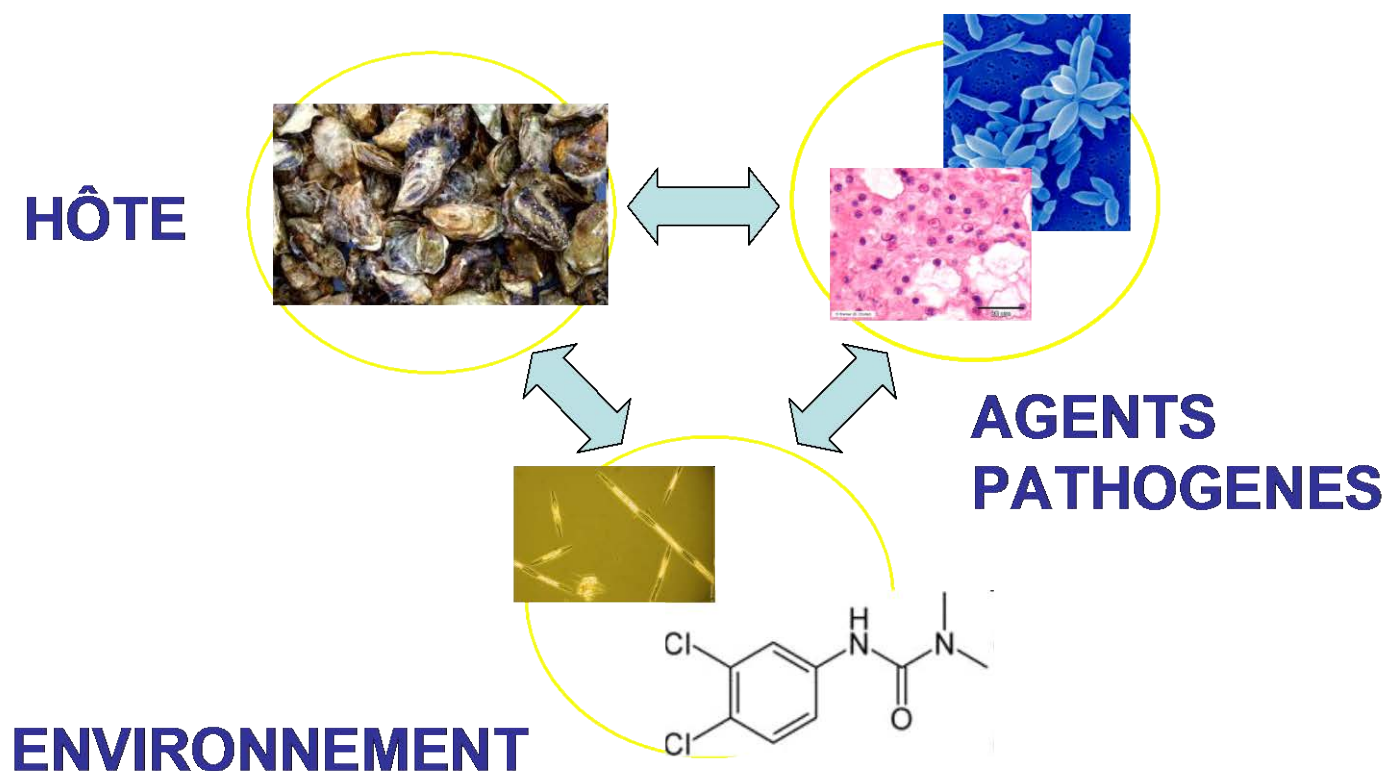


**LIVRET DES RESUMES
DES JOURNEES D'ECHANGES ET
D'INFORMATION**

**« SURMORTALITES DES HUITRES
CREUSES : ACTIONS 2011 ET BILAN
DEPUIS 2008 »**



Journées d'échanges et d'information

« Surmortalités des huîtres creuses : Actions 2011 et bilan depuis 2008 »

Mardi 29 et mercredi 30 novembre 2011

Salles 1 et 2, Centre Ifremer Atlantique, Nantes

A noter : les créneaux horaires indiquent un titre de présentation et le nom de la personne en charge de la présentation.

MARDI 29 NOVEMBRE 2011

10h00 *Accueil-Café (bas des escaliers du bât. Administratif) et récupération des diaporamas*

10h30	Introduction , présentation de la nouvelle organisation liée à la thématique des Surmortalités d'huîtres creuses
15 min	<i>Benoît Beliaeff, Directeur du Département Ressources Biologiques et Environnement (RBE) & Jean-Claude Cochard, responsable par intérim des LER, représentant du Département ODE (sous réserve)</i>
15 min	<i>Tristan Renault, Pierre Boudry, Fabrice Pernet (Comité d'organisation des journées) : contexte et présentation de l'édition 2011 des journées d'échanges et d'information concernant les surmortalités d'huîtres creuses</i>
10h55	Session 1 : Observer et décrire le phénomène de surmortalités
5 min	Introduction - Fabrice PERNET, comité d'organisation des journées
11h00	Observatoire Conchylicole : bilan et premières analyses issus des suivis 2011
	Elodie FLEURY, LER Morbihan Pays de Loire, La Trinité
11h15	Détection d'agents infectieux : résultats 2008-2011 dans le cadre de l'étude des hausses de mortalité (REPAMO)
	Cyrille FRANCOIS, Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade
11h30	Diversité du virus OsHV-1 : étude de 3 régions du génome viral
	Tristan RENAULT, Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade
11h45	Un point sur les outils de détection de <i>Vibrio splendidus</i>
	Marie-Agnès TRAVERS, Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade

12h00	Caractérisation de la variabilité génétique des huîtres creuses sauvages sur les côtes françaises et européennes : apport dans le cadre d'un repeuplement dirigé Sylvie LAPEGUE, Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade
12h15	Evolution spatiale et temporelle du phénomène de surmortalités en rivière de Pénerf : de l'échelle de la poche à celle d'un bassin d'élevage Florian GAUSSEM, LER Morbihan Pays de Loire, La Trinité
12h30	Etude de la variabilité de la survie de l'huître creuse Bruno PETTON, Laboratoire Physiologie des Invertébrés, Argenton
12h45 45 min	<i>Discussions et conclusion de la Session 1</i>

13h30-14h15 Déjeuner (restaurant du Centre Ifremer de Nantes)

14h00-14h15 Récupération des diaporamas de la partie 2

14h15 5 min	Session 2 : Comprendre le phénomène de surmortalités : corrélations et causalités Introduction - Pierre BOUDRY, Comité d'organisation des journées
14h20	Dynamique spatio-temporelle des mortalités printanières d'Huître creuse dans l'étang de Thau, en relation avec la détection d'agents infectieux et les réserves énergétiques des huîtres. Impact des Conditions d'Elevage sur la Survie de l'huître creuse dans l'étang de Thau. Fabrice PERNET, LER Languedoc Roussillon, Sète
14h50	Etude des facteurs biologiques, physiques et zootechniques sur les cinétiques des mortalités d'huîtres en rivière de Pénerf Florian GAUSSEM, LER Morbihan Pays de Loire, La Trinité
15h05	Etude de la sensibilité de <i>C. gigas</i> à OsHV1 en rivière de Pénerf Jean-Yves STANISIERE, LER Morbihan Pays de Loire, La Trinité
15h20	Environnement et survie des naissains d'huîtres creuses dans les pertuis charentais Patrick SOLETCHNIK, LER pertuis Charentais, La Tremblade
15h35	Impacts de 3 variables clés sur la variabilité de la survie de l'huître creuse Bruno PETTON, laboratoire Physiologie des invertébrés, Argenton

15h50-16h15 *Pause Café (bas des escaliers du bât. Administratif)*

16h15	Effets sur l'huître <i>Crassostrea gigas</i>, d'une exposition couplée à <i>Alexandrium catenella</i> et à des huîtres présumées porteuses de l'herpès virus OsHV-1 Jean-Louis NICOLAS, laboratoire Physiologie des invertébrés, Brest
16h30	MicroGigas: Implication des populations microbiennes pathogènes et commensales dans la santé et la capacité de survie de l'huître <i>Crassostrea gigas</i> Julien DE LORGERIL, UMR Ecosym (Ecologie des Systèmes Marins Côtiers), Laboratoire Aquaculture Languedoc Roussillon, Montpellier
16h45	<i>Discussions et Conclusions de la Session 2</i>

MERCREDI 30 NOVEMBRE 2011

9H00 *Accueil-Café (bas des escaliers du bât. Administratif) et récupération des diaporamas*

9h30	Session 3 : Soutenir la gestion du phénomène des surmortalités
5 min	Introduction - Tristan RENAULT, Comité d'organisation des journées
9h35	Laboratoires agréés et reconnus pour la recherche du virus OsHV-1 et de bactéries appartenant au genre <i>Vibrio</i> Tristan RENAULT, Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade
9h50	L'analyse des transferts d'huîtres creuses peut-elle améliorer la stratégie de surveillance et de contrôle des maladies ? Coralie LUPO, Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade
10h05	Mortalités d'huîtres : un point hors de nos frontières Isabelle ARZUL, Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade
10h20	Essais pour évaluer l'efficacité des rayonnements UV dans l'inactivation du pouvoir infectieux du virus OsHV-1 μvar au travers d'infections expérimentales de l'huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> Jean-François Pépin, Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade

10h35-11h *Pause Café (bas des escaliers du bât. Administratif)*

11h	Amélioration de la survie des juvéniles de <i>Crassostrea gigas</i> par la sélection Lionel DEGREMONT, Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade
------------	---

<p>11h15</p>	<p>ASP, Amélioration via la Sélection et la Polypléidisation : cas du caractère survie des naissains de <i>C. gigas</i> vis à vis des surmortalités</p> <p>Abdellah BENABDELMOUNA, Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade</p>
<p>11h30</p>	<p>Eléments statistiques pour l'estimation des taux de survie</p> <p>Julien NORMAND, LER Normandie, Port-en-Bessin</p>
<p>11h45</p>	<p>Mécanismes moléculaires et bases génétiques de la capacité de survie des huîtres <i>Crassostrea gigas</i> à des vibrioses : une exploration transcriptomique</p> <p>Caroline MONTAGNANI, UMR Ecosym (Ecologie des Systèmes Marins Côtiers), Laboratoire Aquaculture Languedoc Roussillon, Montpellier</p>
<p>12h00</p>	<p>Identification de gènes associés à la survie de l'huître <i>Crassostrea gigas</i> : perspectives pour la compréhension des mécanismes de résistance et la sélection génétique</p> <p>Elodie FLEURY, LER Morbihan Pays de Loire, La Trinité (pour le laboratoire Physiologie des invertébrés, Brest)</p>
<p>12h15-13h15</p> <p>1h</p>	<p><i>Discussions et Conclusions de la Session 3</i></p>

13h15-14h15 Déjeuner (restaurant du Centre Ifremer de Nantes)

14h00-14h15 Récupération des diaporamas de la partie 2

<p>14h15</p> <p>5 min</p>	<p>Partie 4.1 – Présentation des projets scientifiques, en cours ou à venir, relatifs au phénomène des surmortalités et perspectives</p> <p>Introduction par les membres du Comité d'organisation des journées</p>
----------------------------------	---

<p>14h20-15h20</p> <p>1h00</p>	<p>Présentation des projets et discussions des actions prévues en 2012</p> <p>Deux diapositives par projet reprenant le contexte et les objectifs.</p> <p><u>Projets rattachés à l'Unité AGSAE (Amélioration génétique, Santé animale et environnement):</u></p> <p><u>Projets rattachés à l'Unité PFOM (Physiologie fonctionnelle des organismes marins)</u></p> <p><u>Projets rattachés à l'Unité BOME (Biologie des organismes marins exploités)</u></p> <p><u>PROJETS rattachés aux LERs</u></p> <p><u>Projets rattachés aux contrats de plan Etat Région</u></p> <p><u>Autres projets :</u></p> <p>- Etude des possibilités d'acquisition d'une résistance génétique aux mortalités estivales des populations sauvages d'huîtres creuses : Bilan des actions 'PHENICS' et 'RESOR'</p> <p>Ismaël BERNARD, laboratoire Physiologie des Invertébrés, Brest</p> <p>- GIGASSUR : programme de recherche intégrée pour améliorer la survie et la durabilité de la filière ostréicole des huîtres creuses, <i>Crassostrea gigas</i>, en France</p> <p>Fabrice PERNET, LER Languedoc Roussillon, Sète</p>
<p>15h20-16h50</p> <p>1h30</p>	<p>Partie 4.2. Communication : Préparation de la journée de restitution « externe » des actions Ifremer concernant les surmortalités. Réflexion sur les messages et les modalités d'information de nos partenaires.</p> <p>Introduction par les membres du Comité d'organisation des journées.</p> <p>Discussion.</p>

Avant propos

Par rapport au programme prévisionnel, deux communications n'ont pas été présentées lors de ces deux journées, celle concernant l'« Environnement et survie des naissains d'huîtres creuses dans les pertuis charentais » et celle sur l'« Identification de gènes associés à la survie de l'huître *Crassostrea gigas* : perspectives pour la compréhension des mécanismes de résistance et la sélection génétique ». Par ailleurs, certains titres ont été légèrement modifiés mais ils restent fidèles au programme prévisionnel.

Ces résumés et exposés ont servi de base à la journée d'information et d'échanges "Les surmortalités des naissains d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*" qui s'est déroulée à Paris le 18 janvier 2012, auprès des acteurs de la filière conchylicole et de l'administration. Une restitution écrite de cette journée à laquelle sera jointe l'ensemble des exposés sous forme de diaporamas Power point est en cours de réalisation.

La compilation et la diffusion des résumés des journées de Nantes des 29 et 30 novembre 2011 constituent la première étape du retour des travaux aux différents acteurs d'Ifremer ayant travaillé sur le sujet.

Cette compilation a été réalisée par **René Robert** et **Fabrice Pernet**, membres du Comité Scientifique Opérationnel "Santé des Bivalves Exploités" rattaché au Département Ressources Biologiques et Environnement (RBE) de l'Ifremer.

Sommaire

1. Observatoire Conchylicole : bilan et premières analyses issus des suivis 2011.....p 08
2. Détection d'agents infectieux: résultats 2008-2011 dans le cadre de l'étude des hausses de mortalité (repamo).....p 09
3. Diversité du virus OsHV-1: étude de trois régions du génome viral.....p 10
4. Un point sur les outils de détection de *V. splendidus*.....p 11
5. Caractérisation de la variabilité génétique des huîtres creuses sauvages sur les côtes françaises et européennes: apport dans le cadre d'un repeuplement dirigé.....p 12
6. Coefficient de corrélation des cinétiques de mortalités à différentes échelles spatiales de la rivière de Pénerf (Morbihan).....p 13
7. Etude de la variabilité de la survie de l'huître creuse dans le milieu naturel.....p 14
8. Dynamique spatio-temporelle des mortalités printanières d'Huître creuse dans l'étang de Thau : relation avec la détection d'agents infectieux et les réserves énergétiques des huîtres.....p 15
9. Dynamique spatio-temporelle des mortalités printanières d'Huître creuse dans l'étang de Thau : relation avec les pratiques culturelles et l'hydrodynamique.....p 16
10. Etude des facteurs de mortalités en rivière de Pénerf en 2011.....p 17
11. Etude de la sensibilité de *C. gigas* à OsHV1 en rivière de Pénerf.....p 18
12. Paramètres clés de la survie de l'huître creuse en environnement infectieux.....p 19
13. Effets sur l'huître *Crassostrea gigas*, d'une exposition couplée à *Alexandrium catenella* et à des huîtres présumées porteuses de l'herpès virus.....p 20
14. MicroGigas: implication des populations microbiennes pathogènes et commensales dans la santé et la capacité de survie de l'huître *C. gigas*.....p 21
15. Laboratoires agréés et reconnus pour la recherche du virus OsHV-1 et de bactéries appartenant au genre *Vibrio*.....p 22
16. L'analyse des transferts d'huîtres creuses peut-elle améliorer la stratégie de surveillance et de contrôle des maladies ?.....p 23
17. Mortalités d'huîtres: un point hors de nos frontières et mesures de contrôle associées.....p 24
18. Efficacité des rayonnements UV dans l'inactivation du pouvoir infectieux du virus OsHV-1 μ var sur l'huître creuse *Crassostrea gigas*.....p 25
19. Amélioration de la survie des juvéniles de *Crassostrea gigas* par la sélection.....p 26
20. ASP, Amélioration via la Sélection et la Polyploïdisation: cas du caractère survie des naissains de *C. gigas* vis à vis des surmortalités.....p 27
21. Mesurer un taux de survie : éléments méthodologiques.....p 28
22. Mécanismes moléculaires et bases génétiques de la capacité de survie des huîtres *Crassostrea gigas* à des vibrioses : une exploration transcriptomique...p 29
23. Etude des possibilités d'acquisition d'une résistance génétique aux mortalités estivales des populations sauvages d'huîtres creuses : Bilan des actions 'PHENICS' et 'RESOR'p 30

Observatoire Conchylicole : bilan et premières analyses issus des suivis 2011

E. Fleury¹, **C. Mary**², **S. Parrad**², **J. Normand**², **S. Pien**³, **V. Lefebvre**³, **J-P. Annezo**⁴, **J. Penot**⁴, **J-Y Piriou**⁴, **S. Pouvreau**⁵, **P. Le Souchu**⁵, **E. Talarmain**⁵, **J-F. Bouget**¹, **S. Claude**¹, **B. Hitier**¹, **A. Langlade**¹, **A-G. Martin**¹, **P. Guilpain**⁶, **J. Grizon**⁶, **S. Robert**⁶, **F. D'Amico**⁷, **C. Barbier**⁷, **P. Le Gall**⁸, **F. Pernet**⁸, **E. Bédier**¹

¹ Ifremer, LER Morbihan Pays de Loire, 56470 La Trinité Sur Mer,

² Ifremer, LER Normandie, 14520 Port-en-Bessin

³ SMEL, Syndicat Mixte pour l'Équipement du Littoral, 50008 Saint Lo

⁴ Ifremer, LER Finistère Bretagne Nord, 29187 Concarneau Cedex

⁵ Ifremer, LPI Brest, 29280 Plouzané

⁶ Ifremer, LER Pertuis Charentais, 17137 L'Houmeau

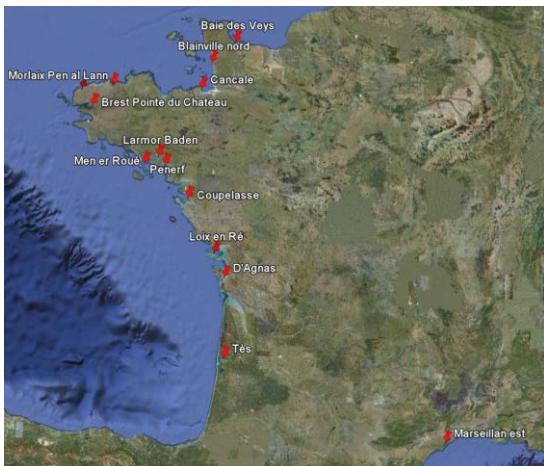
⁷ Ifremer, LER Arcachon, 33120 Arcachon

⁸ Ifremer, LER Languedoc-Rousillon, 34203 Sète, France

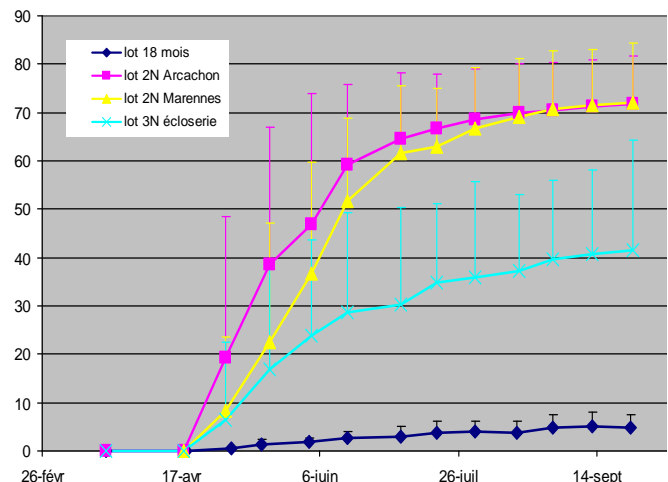
Depuis 2009, l'Ifremer met en œuvre un réseau, nommé « Observatoire Conchylicole » dont l'objectif est de caractériser, sur un plan national, la dynamique spatio-temporelle des mortalités de l'huître *C. gigas*. Pour ce faire, des lots sentinelles d'huîtres correspondant aux différentes origines (captage ou éclosion, diploïdes ou triploïdes) et à différents stades d'élevage (naissain ou adultes 18 mois) sont déployés simultanément sur 14 sites ateliers représentant les grandes régions conchylicoles du littoral français. En parallèle, des données associées à la présence d'agents pathogènes dans ces huîtres, ainsi que des variables environnementales (température, salinité, flores sur certains sites) sont acquises.

Les résultats des suivis réalisés en 2011 mettent en évidence des différences significatives entre les taux de mortalité cumulée sur les lots de naissains diploïdes (moyenne nationale 72 %), les naissains triploïdes (moyenne nationale 41 %) et les lots d'huîtres de 18 mois (moyenne nationale 5 %). De plus, la cinétique d'apparition des mortalités diffère selon les sites, et semble suivre un gradient sud-nord, fortement corrélé à la date du passage de la température seuil (16° C). Les analyses pathologiques réalisées sur l'ensemble des individus au cours des mortalités montrent une présence quasi-permanente d'Herpes virus OsHV1 μ var, associée à la présence de *Vibrio splendidus*: une relation de type exponentielle est observée entre le nombre d'individus porteurs et les taux de mortalité.

La comparaison des résultats obtenus lors des suivis 2011 avec ceux des années 2009 et 2010 (pour le lot diploïde commun en provenance d'Arcachon) met en évidence l'ampleur du phénomène en 2011, puisqu'il atteint presque systématiquement les valeurs les plus élevées entre les trois années. Ces fortes valeurs semblent coïncider avec des températures printanières de l'eau plus élevées, comparativement aux autres années.



Positionnement des 14 sites ateliers de l'Observatoire



Moyenne des taux de mortalité cumulée pour les différents lots en 2011

Détection d'agents infectieux: résultats 2008-2011 dans le cadre de l'étude des hausses de mortalité (repamo)

C. François¹, T. Renault¹, B. Guichard¹, J-P. Joly¹, C. Garcia¹, C. Lupo¹, L. Miossec¹, D. Saulnier¹, M-A. Travers¹, J-F. Pépin¹, S. Ferrand¹, E. Omnes¹, D. Tourbiez¹, N. Faury¹, P. Haffner¹, M. Robert¹, B. Chollet¹, L. Cobret¹, I. Arzul¹, F. Rauflet², E. Le Gagneur³, S. Parrad³, M. Ropert⁴, G. Mouillard⁵, D. Gerla⁵, D. Le Gal⁵, J-P. Annezo⁵, A. Terre-Terrillon⁵, A. Langlade⁶, E. Bédier⁶, B. Hittier⁶, S. Bréerette⁶, J. Grizon⁷, J-M. Chabirand⁷, S. Robert⁷, O. Courtois⁷, J-L. Seugnet⁷, M. Rumebe⁸, C. Cantin⁸, P. Le Gall⁹, M. Bouchoucha¹⁰, Y. Baldi¹⁰, C. Ravel¹⁰, J-C. Masson¹¹, A-G. Martin⁶.

¹ Ifremer LGP La Tremblade, ² Ifremer LER Boulogne, ³ Ifremer LER Normandie, ⁴ DOI La Réunion, ⁵ LER Finistère Bretagne Nord (Brest, Concarneau, Dinard), ⁶ Ifremer LER Morbihan Pays de Loire, ⁷ Ifremer, LER Pertuis Charentais, (L'Houmeau, La Tremblade), ⁸ Ifremer LER Arcachon, ⁹ Ifremer, LER Languedoc-Rousillon, ¹⁰ Ifremer LER PAC (Toulon, Corse), ¹¹ Ifremer DYNECO-VIGIES (Nantes)

L'étude des hausses de mortalité chez toutes espèces de mollusques constitue un des trois protocoles d'épidémiologie du réseau Ifremer de pathologie des mollusques (repamo). De nombreux partenaires ont été impliqués dans la surveillance des maladies des mollusques de 2008 à 2011, période pendant laquelle la production d'huîtres creuses a été particulièrement affectée par des épisodes de mortalités touchant surtout les jeunes animaux. Au niveau de l'administration, l'autorité compétente en matière de santé des mollusques est la DPMA, remplacée pour cette mission par la DGAI en juillet 2008; au niveau des services déconcentrés les DDAM ont été remplacés par les DDTM en 2010. Au sein d'Ifremer plusieurs laboratoires sont intervenus soit en termes de réalisation d'échantillonnage et de recueil de commémoratifs soit en termes analytique ou de recherche plus en amont. La création du premier réseau de laboratoires départementaux d'analyses agréés pour la réalisation d'analyses en pathologie des mollusques a contribué à une réponse plus efficace en matière d'analyses en cas de crise zoosanitaire survenant chez les huîtres creuses.

En 2008, plusieurs méthodes diagnostiques ont été mises en œuvre en routine (histologie, biologie moléculaire) complétées par des méthodes complémentaires (microscopie électronique à transmission, séquençage, galeries Apizym...) et des essais de reproduction expérimentale des mortalités. Après une phase de développement au LGP, de nouvelles techniques diagnostiques ont été appliquées (PCR en temps réel, SYBR visant OsHV-1 et PCR en temps réel Taqman visant *V. splendidus* et *V. aestuarianus* en routine à partir de 2009, PCR CF/CR visant OsHV-1 génotype microvar en routine à partir de 2010) au LGP et dans les laboratoires agréés (après sessions de transfert de techniques et essais inter-laboratoires réussis).

Les agents infectieux détectés de 2008 à 2011 ont été en majorité des virus et des bactéries : le virus de type Herpès OsHV-1, pour lequel plusieurs génotypes ont été identifiés (en particulier, le génotype microvar qui apparaît comme émergent) et des bactéries Vibrionacées, en particulier *Vibrio aestuarianus* et le groupe de *Vibrio harveyi*. Le groupe de *Vibrio splendidus* a également été régulièrement détecté et des outils diagnostiques visant à cibler les souches virulentes de *Vibrio splendidus* sont en cours de développement au LGP.

Diversité du virus OsHV-1: étude de trois régions du génome viral

T. Renault¹, P. Moreau¹, N. Faury¹, J-F. Pepin¹, A. Segarra¹, S. Webb²

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

² Cawthron Institute, 98 Halifax Street East, Nelson 7010, Nouvelle Zélande

Le virus Ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) est associé à des épisodes de mortalité chez différentes espèces de bivalves, incluant l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, dans des écloseries/nurseries et dans le milieu naturel. Il a été purifié à partir de larves d'huître creuse, *C. gigas*, en France et son génome entièrement séquencé (GenBank accession n° AY 509253). Le virus a été classé dans la famille des *Malacoherpesviridae* au sein de l'ordre des *Herpesvirales*.

Des variants du virus OsHV-1 ont été décrits chez différentes espèces de bivalves dans diverses localisations géographiques. De plus, depuis 2008, des épisodes de mortalités massives d'huîtres creuses, *C. gigas*, sont rapportés en Europe en relation avec la détection d'un génotype particulier appelé OsHV-1 μ Var (GenBank accession n° HQ842610). Bien que les deux génotypes aient été détectés en association à des épisodes de mortalité en 2008 en France, OsHV-1 μ Var a été très majoritairement observé en 2009, 2010 et 2011. Ces résultats posent des questions concernant l'émergence, la virulence et l'origine d'OsHV-1 μ Var.

soixante-neuf "isolats" de virus principalement collectés en France entre 1993 et 2010, mais également aux USA, en Chine, en Irlande, au Japon et en Nouvelle Zélande ont fait l'objet d'analyses en PCR et en séquençage en ciblant trois zones virales (ORF4, ORFs 35/36/37/38 et ORFs 42/43), afin de mieux décrire la diversité génétique du virus et d'en réaliser une première analyse phylogénétique.

Deux groupes majoritaires ont pu être définis, le premier intégrant les isolats français prélevés de 1994 à 2008 (GenBank accession n° AY509253) et le second, certains échantillons français collectés en 2008 et tous les échantillons prélevés en 2009 et 2010 (OsHV-1 μ Var) (GenBank accession n° HQ842610). Les échantillons provenant du Japon et de Nouvelle Zélande apparaissent comme proches de ce second groupe.

Un point sur les outils de détection de *V. splendidus*

M.A. Travers, P. Haffner, D. Tourbiez, S. De Decker, M. Robert, C. Garcia, C. François, S. Ferrand, J-F. Pépin, D. Saulnier, T. Renault

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

Depuis 2008, de fortes mortalités d'huîtres ont été observées sur le littoral européen. Parmi les différents agents pathogènes qui pourraient être responsables de ces mortalités anormales, la bactérie *Vibrio splendidus* a été fréquemment isolée d'huîtres moribondes en France.

Certaines souches appartenant au vaste groupe *V. splendidus* sont en effet connues pour leur virulence sur les huîtres (seules ou en mélange): des souches de l'espèce *V. splendidus* mais également des souches appartenant aux espèces *V. lentus* et *V. crassostreae*. Les souches du groupe *V. splendidus* sont très diverses (11 espèces) et de nouvelles espèces appartenant à ce groupe sont régulièrement décrites.

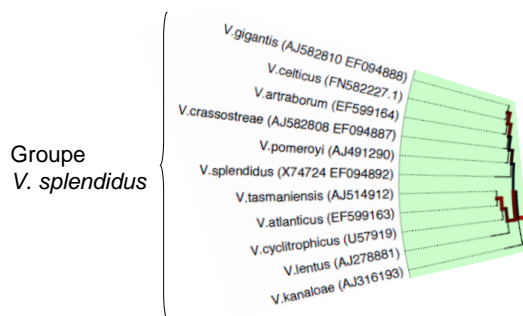


Figure 1 : Espèces appartenant au groupe *V. splendidus* (<http://www.vibriobiology.net/>). Basé sur les séquences des ARNr 16s. Analyse par Neighbor-Joining.

Des premiers outils ont donc été développés en 2008 et transférés en 2009, permettant une détection générique de toutes les espèces du groupe et leur quantification. Ces outils ne permettent pas d'identifier spécifiquement les souches virulentes appartenant au clade *V. splendidus* mais permettent une détection globale. Cependant, après trois années d'utilisation, nous avons pu observer que:

- les souches appartenant au groupe *V. splendidus* représentent plus de 50 % des souches isolées d'huître (cultivables à 22° C)
- des souches appartenant au groupe *V. splendidus* sont retrouvées chez des huîtres saines comme lors d'épisode de mortalité (parfois en quantité équivalente)
- les souches appartenant au groupe *V. splendidus* ne sont pas toutes pathogènes pour l'huître.

Ainsi certaines bactéries du groupe *V. splendidus* font partie de la flore normale des huîtres et des analyses ponctuelles de la charge en bactéries appartenant au groupe *V. splendidus* sont souvent peu informatives et difficile à interpréter. Cependant, des cinétiques serrées de la charge en bactéries du groupe *V. splendidus* semblent révéler, certaines années, des corrélations entre fréquence de détection et mortalités (étude cidaginf 2009-2010). Ces outils d'analyse semblent ainsi dans certains cas et certaines années pouvoir apporter des éléments de réponse, mais leur interprétation doit être faite avec beaucoup de précautions (détection de toutes les espèces appartenant au groupe et non uniquement des souches virulentes).

En conclusion, les outils actuels qui autorisent une détection générique des bactéries du groupe *V. splendidus* ne permettent pas d'aborder réellement la question de la causalité des mortalités observées. Dans le cadre du réseau REPAMO, ces analyses vont donc être suspendues en 2012. De nouveaux outils spécifiques ciblant les espèces ou souches virulentes du groupe *V. splendidus* sont en cours de développement.

Caractérisation de la variabilité génétique des huîtres creuses sauvages sur les côtes françaises et européennes: apport dans le cadre d'un repeuplement dirigé

S. Lapègue¹, F. Cornette¹, A. Rohfritsch¹, S. Heurtebise¹, N. Bierne², P. Boudry³

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

²ISEM, Département Biologie Intégrative, 1 quai de la daurade 34200 Sète

³Ifremer LPI, Technopôle Brest Iroise 29280 Plouzané

L'huître creuse, *Crassostrea gigas*, a été introduite massivement il y a environ 40 ans en Europe à des fins de repeuplement à partir de différents stocks d'adultes et de naissains d'Amérique du Nord et d'Asie, alors que l'espèce précédemment exploitée, *Crassostrea angulata*, avait quasiment disparu. Dans un premier temps, la reproduction et le captage de *C. gigas* ont été un succès dans les zones traditionnelles de captage (Arcachon et Marennes-Oléron) permettant une relance de la production ostréicole. Depuis la fin des années 1980, des populations se sont développées le long des côtes de la Manche et de la Mer du Nord et atteignent désormais la Scandinavie.

Ainsi de nombreuses populations non exploitées se sont développées sur les côtes européennes, le plus souvent en interaction avec des stocks en élevage. Des travaux développés à différentes échelles mettent en évidence une grande variabilité génétique de l'ensemble des populations sauvages françaises, équivalente à celle observée dans la zone d'origine au Japon. De plus, cette grande variabilité se répartit de façon très homogène entre les bassins de production, ce qui est dû à la fois aux caractéristiques biologiques de l'espèce et aux transferts très importants d'huîtres en élevage entre les différents bassins. Cependant, les populations du Nord de l'Europe se distinguent en particulier par une réduction de la diversité génétique, représentant un sous-ensemble du pool génétique présent en France. Ceci est très certainement dû à des flux de gènes à la fois naturels et anthropogéniques plus restreints dans cette zone de l'Europe colonisée plus récemment.

Les outils utilisés et les résultats obtenus sont présentés et analysés dans le cadre d'un possible repeuplement dirigé de stocks améliorés sur les côtes françaises. En effet, dans le cadre d'un tel projet, les outils génétiques peuvent s'avérer utile pour, à la fois poursuivre et élargir la caractérisation génétique des populations sauvages en Europe, mais également tenter de mettre en évidence et suivre la présence de stocks améliorés dans les zones de captage, et déterminer ainsi la faisabilité d'une telle opération de repeuplement.

Coefficient de corrélation des cinétiques de mortalités à différentes échelles spatiales de la rivière de Pénerf (Morbihan)

F. Gaussem¹, J-Y. Stanisière¹, J. Mazurié¹, D. Chudeau¹, B. Hitier², A. Thébault³, N. Cochenec-Laureau¹

¹ Ifremer, LER Morbihan Pays de Loire, 56470 La Trinité Sur Mer

² Ifremer, LER Morbihan Pays de Loire, 44311 Nantes Cedex 03

³ Anses, 23, avenue du Général de Gaulle, 94706 Maisons-Alfort Cedex

Afin de mieux comprendre la diffusion spatiale et temporelle du phénomène de surmortalité des naissains d'huîtres creuses, une étude épidémiologique descriptive a été menée par l'Ifremer en rivière de Pénerf en 2010 et 2011. La première phase de l'étude (2010) a été effectuée avec un suivi bimensuel des mortalités sur différents lots d'huîtres appartenant à des professionnels à l'échelle d'une (intra-concession) puis de plusieurs concessions (inter-concessions). En 2011, une seconde étude de type expérimental a été menée avec la même fréquence mais sur un lot d'huître identique.

La similarité des cinétiques de mortalité a été testée à différentes échelles spatiales : la poche, la concession, le secteur d'élevage et le bassin d'élevage. Les variogrammes obtenus montrent :

1. A l'échelle intra-poche (suivis 2011 / échelle 0 à 0,5 m / même lot) : on constate une forte similarité des cinétiques de mortalité ($R = 0,86$). Les taux de mortalités cumulés finaux sont également très proches.
2. A l'échelle intra-concession (suivis 2010 / échelle 1 à 60 m / même lot) : la similarité des cinétiques de mortalité est faible ($R = 0,40$) sans effet de la distance entre les poches. On constate également une forte variabilité des taux de mortalités cumulés finaux (50 à 75 %).
3. A l'échelle inter-concessions dans un même secteur d'élevage (suivi 2010 / échelle 500 à 1000 m / lots différents) : l'indice de similarité des cinétiques de mortalités varie en fonction de la distance entre les poches ; élevé à 100 mètres ($R = 0,84$), il décroît rapidement, ($R = 0,20$ à 1100 mètres). On constate également une forte variabilité des taux de mortalité cumulés finaux.
4. A l'échelle d'un bassin d'élevage (suivis 2011 / échelle 3000 à 6000 m / même lot) : une similarité des cinétiques de mortalités très faible ($R = 0,25$). Les taux de mortalités cumulés finaux sont également très variables (45 à 72 %).

Ces résultats montrent que les déclenchements, l'évolution et les taux de mortalités cumulés finaux varient fortement en fonction de l'échelle étudiée. La similitude des cinétiques de mortalité observée entre deux points dépend fortement de la date d'immersion du lot, du statut sanitaire des animaux ainsi que des conditions du milieu d'élevage. On notera que ces résultats, valables pour une période donnée et sur un secteur particulier nécessiteraient d'être reproduits sur d'autres sites pour être affinés.

Pour compléter cette étude, il semblerait intéressant et nécessaire d'étudier les cinétiques de mortalités à l'échelle intra-poche par un suivi individuel des différents individus d'un même compartiment (échelle inter-individus).

Etude de la variabilité de la survie de l'huître creuse dans le milieu naturel

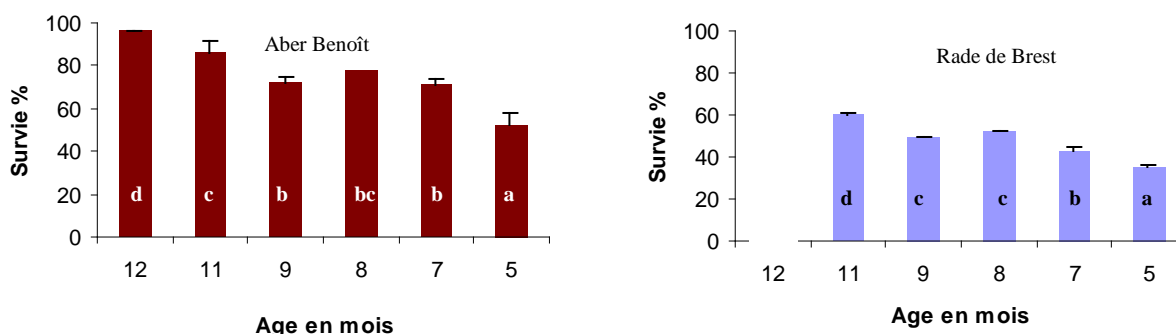
B. Petton, P. Le Souchu, C. Mingant, L. Le Brun, I. Quéau

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

Depuis 2008, le phénomène des surmortalités conduit invariablement à une très faible survie du naissain en élevage. Dans ce contexte de crise, seule la voie de la sélection génétique a démontré une capacité à modérer significativement les mortalités. L'objet du travail, initié en 2010, était de préciser les limites d'influence de la pathologie liée aux surmortalités de l'huître creuse.

La démarche mise en œuvre a consisté en un relevé de la survie de dix cohortes de juvéniles d'huîtres creuses. Elles ont été produites à intervalle de six semaines à la station d'Argenton (protocole d'élevage standard et origine identique des animaux reproducteurs). Cette évaluation de la survie a été menée, du stade naissain jusqu'à l'âge adulte, hors et pendant des périodes infectieuses sur trois sites aux environnements contrastés de la zone Nord Finistère (rade de Brest, aber Benoit et Porspoder).

Les résultats à la fin de l'année 2011 montrent qu'en dehors des périodes infectieuses, le naissain en culture ne présente, ni mortalité, ni changement de statut sanitaire OsHV-1 sur les trois sites naturels testés. Ce premier résultat confirme la bonne qualité intrinsèque des juvéniles et un mécanisme de contamination de l'herpès virus OsHV-1 non opérationnel en dehors des périodes infectieuses. Le premier contact avec la pathologie révèle un fort effet modérateur de l'âge de l'huître (figures 1 et 2) sans interaction avec la taille, la meilleure survie étant obtenue par le naissain le plus âgé transféré dans le milieu naturel en automne. La variabilité de la survie des dix lots de naissain sur les trois sites est considérable. Une absence de mortalité à Porspoder pour les dix cohortes est relevée. En rade de Brest, la variabilité spatiale et temporelle des mortalités se caractérise par des sites en fond de rade touchés à un même niveau de mortalité mais à une échelle temps différente (10 à 75 jours pour le début des mortalités). Les deux sites éloignés du fond de la rade ne sont pas impactés par la pathologie avec des survies de 100 %. Les températures moyennes étant proches pour ces différents points d'études et toujours supérieures à 16° C, ce paramètre ne peut donc expliquer seul ces variations. La proximité de sources infectieuses interagissant avec la dynamique de renouvellement de l'eau de mer de la rade pourrait être une cause de la variabilité enregistrée lors de ces suivis.



Figures 1 et 2. Effet de l'âge sur la capacité de survie de l'huître creuse dans le milieu naturel pendant une période infectieuse dans deux sites contrastés (gauche : Aber Benoit, droite : Rade de Brest). A noter que les mêmes lots placés sur le site de Porspoder ne présentent aucune mortalité.

Dynamique spatio-temporelle des mortalités printanières d'Huître creuse dans l'étang de Thau : relation avec la détection d'agents infectieux et les réserves énergétiques des huîtres

F. Pernet¹, F. Lagarde¹, N. Jeannée², J. Barret¹, P. Le Gall¹, M. Miguet¹, H. Boutet³, N. Keck³

¹ Ifremer LER LR, Avenue Jean Monnet, 34200 Sète

² Géovariance, 49bis avenue Franklin Roosevelt, BP 91 77212 Avon Cedex

³ Laboratoire départemental vétérinaire, Conseil Général de l'Hérault, 306 Rue Croix de Las Cazes 34000 Montpellier

L'objectif principal consiste à examiner la structure spatiale des mortalités d'huîtres creuses dans l'étang de Thau en relation avec la détection d'agents infectieux et les réserves énergétiques. Afin de répondre à cet objectif, nous avons suivi la mortalité d'un lot d'huîtres considéré indemne sur 106 stations dans l'étang de Thau depuis le 12 mars 2011.

Nos résultats montrent que les mortalités sont structurées dans l'espace et le temps (Fig. 1). L'analyse des variogrammes suggère que ce phénomène se propage comme une contagion dont la portée est d'environ 1 km. D'autre part, il y a un effet de zone significatif sur les cinétiques de mortalité: les huîtres déployées hors des zones d'élevage survivent en moyenne 12 à 14 jours de plus que les huîtres dans les zones d'élevage. Enfin, notre étude montre qu'il n'y a pas de zone indemne de mortalité, sauf 1 station sur 106 (Fig. 1).

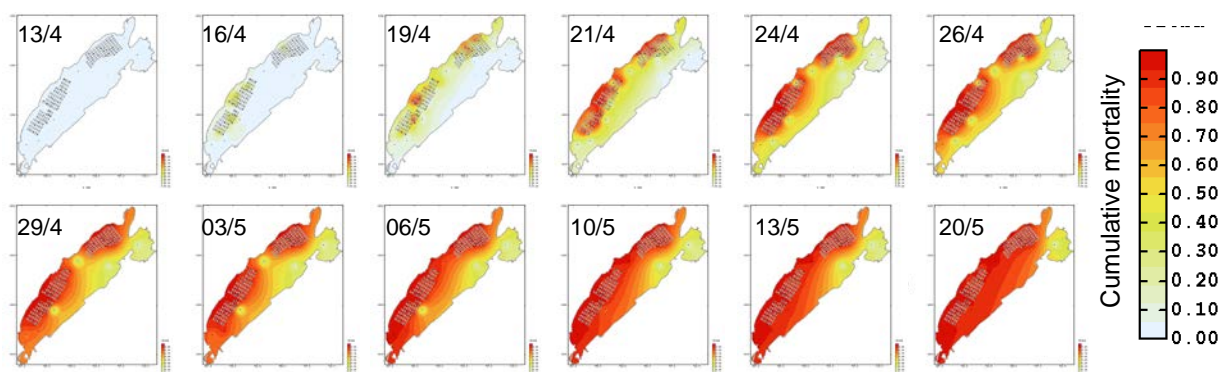


Figure. 1. Carte des mortalités cumulées d'huîtres creuses dans la lagune de Thau en fonction du temps. Carrés noirs : zones d'élevage.

Le temps de survie moyen des huîtres dans la lagune de Thau varie en fonction du diagnostic et plus particulièrement en fonction de la co-détection OsHV-1 et *V. splendidus*. Le temps de survie des huîtres est plus faible lorsque l'ADN de ces deux agents infectieux est détecté dans les huîtres. Tous les événements de mortalité constatés coïncident avec la détection d'ADN viral OsHV-1 en quantité importante. Le virus OsHV-1 est donc une cause prédominante de mortalité des huîtres *in situ*.

Les réserves énergétiques des huîtres (sucres et triglycérides) sont plus faibles dans les sites à mortalité précoce comparativement aux sites à mortalité plus tardive. Par conséquent, il est possible que l'état énergétique des huîtres explique une partie de la variance du temps de survie moyen des huîtres *in situ*.

Dynamique spatio-temporelle des mortalités printanières d'Huître creuse dans l'étang de Thau : relation avec les pratiques culturales et l'hydrodynamique

F. Pernet¹, F. Lagarde¹, N. Jeannée², L. Cesmat¹, J. Barret¹, P. Le Gall¹, M. Miguet¹, A. Fiandrino¹

¹ Ifremer LER LR, Avenue Jean Monnet, 34200 Sète

² Géovariance, 49bis avenue Franklin Roosevelt, BP 91 77212 Avon Cedex

L'objectif principal de ce projet consiste à examiner l'effet des pratiques culturales sur la mortalité des huîtres cultivées et la transmission des agents infectieux dans l'étang de Thau à l'échelle du bassin.

Afin de répondre à cet objectif, nous proposons une approche corrélative à grande échelle consistant à mettre en relation les cinétiques de mortalité d'un lot d'huîtres considéré indemne déployé sur 106 stations dans l'étang de Thau avec les pratiques culturales environnantes. Chaque concession où un panier d'huître est déployé est décrite selon plusieurs critères quantitatifs et qualitatifs, parmi lesquels le pourcentage d'occupation global de la table par les mollusques bivalves, la densité d'occupation moyenne de la table (nombre de fils par carré ou perche), le pourcentage d'occupation en fonction du type de culture (panier, lanterne, corde), du stade d'élevage (pré grossissement [tubes, coupelles, coquilles, pearl nets, lanternes], grossissement [pignes, collées [petite, moyenne, grosse], paniers], stockage/affinage), et des espèces cultivées (huîtres creuses, moules, autres, abandonnée).

Parmi les résultats importants, cette étude montre que les espèces en élevage influence significativement la survie des huîtres « sentinelles » (Fig. 1). Les huîtres déployées sur des concessions dédiées à l'élevage de moule présentent un temps de survie moyen de 17.2 jours contre 14.4 à 15.4 jours dans les concessions vides ou dédiées aux huîtres (seules ou en mélanges).

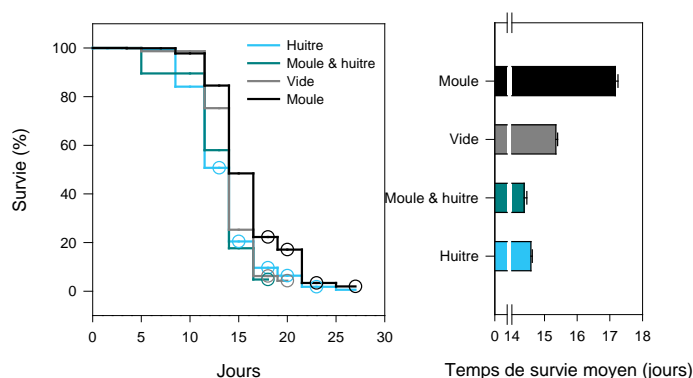


Figure 1. Courbe de survie (gauche) et temps de survie moyen calculé à partir du 6 avril 2011 (droite) des huîtres « sentinelles » en fonction des espèces cultivées sur la concession.

Les huîtres déployées dans les concessions dédiées à l'élevage de moule présentent des quantités d'ADN viral OsHV-1 légèrement moindre comparativement aux huîtres placées dans les autres concessions, pouvant ainsi expliquer les différences de temps de survie moyen. Ce résultat doit être tempéré par le fait que les concessions dédiées à l'élevage des moules suivies dans cette étude sont situées principalement dans une zone d'élevage à Bouzigues. Le facteur « espèce en élevage » est partiellement confondu avec leur localisation géographique de sorte qu'il n'est pas possible d'attribuer aux élevages de moules seuls la plus grande longévité des huîtres.

Les autres facteurs examinés ont globalement peu d'effet sur la survie des huîtres. Les analyses statistiques sont toujours en cours.

Etude des facteurs de mortalités en rivière de Pénerf en 2011

F. Gaussem¹, J-Y. Stanisière¹, J. Mazurié¹, D. Chudeau¹, B. Hitier², A. Thébault³, N. Cochenec-Laureau¹

¹ Ifremer, LER Morbihan Pays de Loire, 56470 La Trinité Sur Mer

² Ifremer, LER Morbihan Pays de Loire, 44311 Nantes Cedex 03

³ Anses, 23, avenue du Général de Gaulle, 94706 Maisons-Alfort Cedex

L'enquête de terrain réalisée en 2010 par l'Ifremer auprès de cinquante-trois professionnels de la rivière de Pénerf a montré l'importance de l'origine du naissain, du secteur et de sa date d'ensemencement sur les taux de mortalité cumulés finaux. Le protocole 2011 avait pour objectif de préciser l'influence de la date d'immersion ainsi que le rôle des facteurs environnementaux sur le phénomène de mortalités 2011.

Pour cela, un même lot de naissains a été ensemencé à trois dates différentes (mi-avril, fin-mai et mi-juillet) sur neuf stations réparties sur l'ensemble de la rivière de Pénerf. Avant d'être implantés sur le terrain, les naissains étaient préservés dans les bassins de la station Ifremer où aucune mortalité n'a été préalablement décelée. Un suivi régulier des mortalités ainsi que des analyses pathologiques (OsHV-1 μ var) sur les naissains et l'eau de mer de chaque station ont montré:

1. Une variation de la charge virale dans l'eau

Le suivi de la charge en virus dans l'eau de mer a mis en évidence deux pics de contamination entre le début du mois de mai et la fin septembre (autour du 15 juin et du 15 août). Ces deux pics touchent simultanément l'ensemble des stations du bassin. La charge virale moyenne dans l'eau de mer ne dépend pas directement du stock d'huîtres avoisinant.

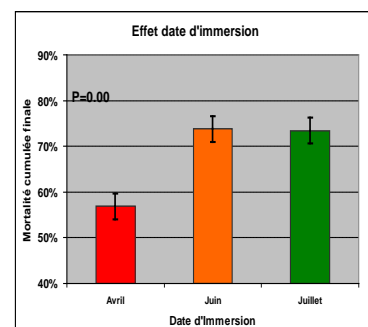
2. Une forte relation entre le milieu et les mortalités constatées

La mortalité cumulée finale observée apparaît différente selon les stations. Elle est significativement corrélée à l'interaction entre la charge virale moyenne dans l'eau de mer de la station et de la bathymétrie. Aucune corrélation significative n'a par contre été mise en évidence avec la température, la croissance ou le stock d'huître environnant (naissain et adulte).

3. Influence des différents facteurs étudiés sur les mortalités

L'analyse de la mortalité cumulée apparaît significativement différente selon la date d'immersion (cf. graphique). On démontre qu'un ensemencement précoce (avril) améliore très sensiblement la survie du lot (+15 à 20 %) par rapport à un ensemencement au mois de juin ou de juillet.

Les résultats de cette étude confirment les résultats de l'enquête de terrain 2010 sur l'influence de la date et du secteur d'ensemencement d'un lot sur le taux de mortalité cumulé final. Ils soulignent également l'effet majeur du milieu sur les mortalités qui découlent de l'interaction entre le stock total de naissains d'une zone d'élevage (biomasse infectieuse), l'hydrodynamisme (diffusion des agents infectieux) et la bathymétrie d'une concession (temps potentiel d'exposition aux agents infectieux). Seule l'approche hydrodynamique initiée récemment à l'aide d'un modèle permettra d'éclairer les phénomènes de diffusion du virus dans le milieu. Cette approche pourrait déboucher sur des préconisations concernant les secteurs et les périodes d'ensemencement des naissains à l'échelle d'une zone de production.



Etude de la sensibilité de *C. gigas* à OsHV1 en rivière de Pénerf

F. Gaussem¹, J-Y. Stanisière¹, J. Mazurié¹, D. Chudeau¹, B. Hitier², A. Thébault³, N. Cochenec-Laureau¹

¹ Ifremer, LER Morbihan Pays de Loire, 56470 La Trinité Sur Mer

² Ifremer, LER Morbihan Pays de Loire, 44311 Nantes Cedex 03

³ Anses, 23, avenue du Général de Gaulle, 94706 Maisons-Alfort Cedex

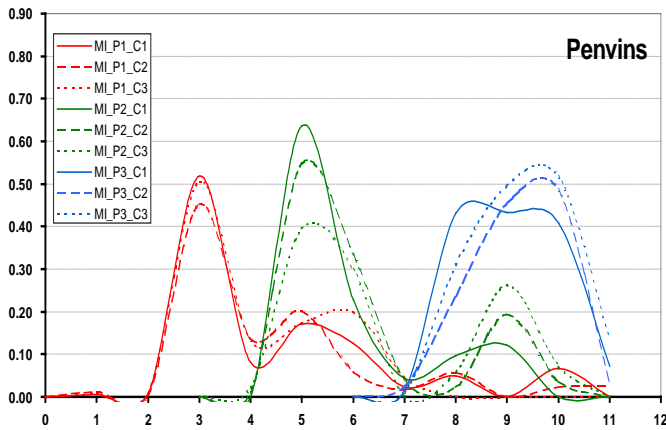


Figure 1. Suivi bi-mensuel du pourcentage de mortalité d'un même lot de naissain implanté à trois dates successives (rouge, vert et bleu) à Penvins.

En rivière de Pénerf, le suivi bi-mensuel des mortalités (en triplicat) d'un même lot d'huîtres (2N naturel Arcachon) en neuf stations et à trois dates d'implantation révèle plusieurs pics de mortalités entre mi-avril et fin septembre 2011. Pour toutes les dates d'implantation, le premier pic de mortalité apparaît significativement plus élevé que les suivants (figure 1).

Le suivi de la concentration en OsHV1 μvar dans l'eau indique que la diminution du taux de mortalité est sans lien avec une baisse de la pression virale dans le milieu. Le suivi en OsHV1 dans les huîtres au cours des pics successifs ne montre pas une diminution de la prévalence ni de la charge virale dans la chair. Ce résultat est en désaccord avec l'idée d'une amélioration de la résistance des individus à l'infection.

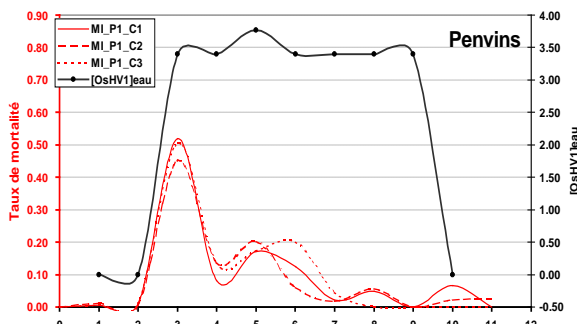


Figure 2. Mortalité bi-mensuelle (traits rouges) et concentration en OsHV1 μvar de l'eau (trait noir).

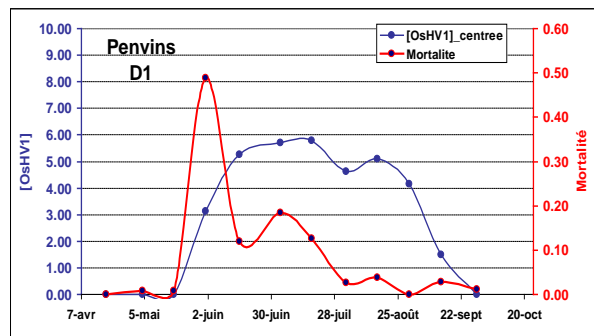


Figure 3. Mortalité bi-mensuelle (trait rouge) et concentration moyenne en OsHV1 μvar dans la chair des naissains (trait bleu).

Sélection des plus robustes ou adaptation dans le temps des individus à l'infection à OsHV1, l'expérience menée ici ne permet pas d'y répondre. En revanche elle montre que les survivants sont toujours à même de diffuser le virus et de participer au maintien de l'épizootie dans le secteur d'élevage.

En parallèle la comparaison des tailles entre mortes et vivantes a permis de montrer que OsHV1 μvar tue significativement plus les individus petits. L'expérience ne permet pas discerner l'influence respective du facteur croissance et/ou taille sur la sensibilité des individus au pathogène. La réitération de ce suivi avec des individus collés sur un support pourrait permettre d'y répondre.

Paramètres clés de la survie de l'huître creuse en environnement infectieux

B. Petton, P. Le Souchu, C. Mingant, L. Le Brun, I. Quéau

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

Depuis 2008, le phénomène des surmortalités conduit invariablement à un même constat dans les divers environnements naturels d'élevage, à savoir une faible survie qui représente, après le passage de la pathologie, à peine un tiers de la population initiale. Pourtant, les travaux menés depuis 2010 à Argenton sur trois sites naturels aux environnements contrastés montrent qu'il existe une variabilité des réponses en terme de mortalité. Elles sont ainsi comprises, pour du naissain de même origine, entre 50 et 70 % en rade de Brest contre 10 à 50 % à l'aber Benoit et demeure absente pour le site de Pospoder. Une étude complémentaire en rade de Brest a mis en évidence une forte variabilité temporelle dans l'apparition des mortalités entre différentes zones de ce bassin de production. L'objectif de ce travail était d'étudier, en outil contrôlé, certains paramètres environnementaux susceptibles d'expliquer les variations de survie relevées dans le milieu naturel. La température du milieu de vie, l'hydrodynamisme de la masse d'eau et l'impact des sources pathogènes ont ainsi été étudiées lors de choc infectieux sur du naissain qualifié comme non porteur de l'herpès virus OsHV-1 (productions Argenton).

Les résultats de ces essais montrent que la plage thermique optimale pour le développement de la pathologie est comprise entre 16 et 22° C avec des valeurs de mortalités non différenciables (figure 1). En dessous de 16° C et au-dessus de 22° C les valeurs de mortalités cumulées baissent significativement. Le suivi microbiologique révèle une transmission OsHV-1 rapide (<48 h) à l'ensemble du naissain naïf pour toutes les conditions thermiques. Le démarrage des mortalités est associé à une flambée bactérienne (vibrions).

A 22° C, l'hydrodynamisme du milieu de vie lors d'un choc infectieux génère des différences significatives de mortalité (figure 2). Plus la valeur du taux de renouvellement est faible, plus fort est le niveau d'expression de la pathologie. De même, pour une condition de renouvellement identique, le niveau des mortalités est en lien avec la valeur de la biomasse infectieuse. La variabilité des survies de l'huître creuse dans le milieu naturel est probablement fortement influencée par l'hydrodynamisme de la masse d'eau de mer et la plus ou moindre proximité de sources infectieuses. La température a une forte influence sur le développement de la pathologie dans l'animal.

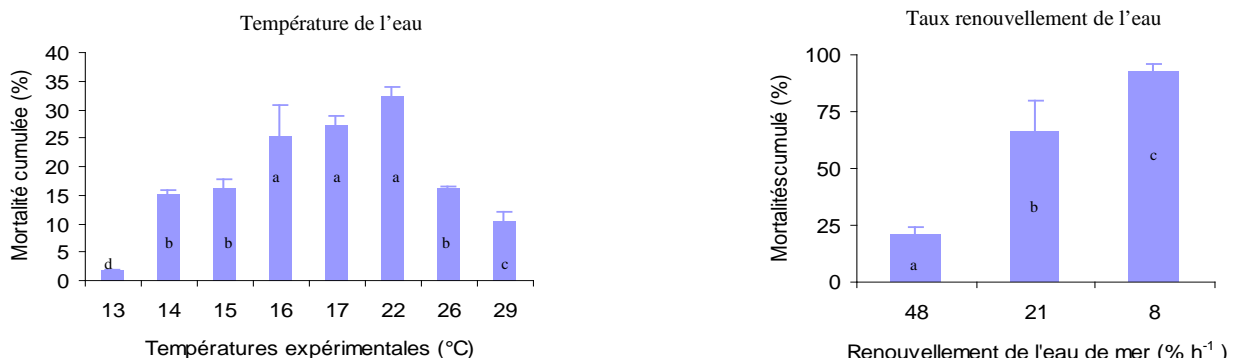


Figure 1 et 2. Influence de huit températures et de trois taux de renouvellement d'eau de mer sur la mortalité du naissain de *Crassostrea gigas*.

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

H. Hégaret¹, M. Lassudrie¹, P. Miner², J. Le Grand², P. Soudant¹, C. Fabioux¹, C. Lambert¹, N. Le Goïc¹, B. Petton², **J-L. Nicolas**²

¹ Université de Bretagne Occidentale, LEMAR/ IUEM, ZI de la Pointe du Diable, 29200 Brest

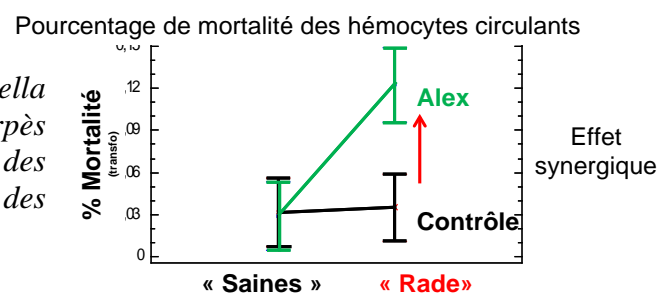
² Ifremer LPI, BP 70, 29280 Plouzané

Cette étude vise à évaluer l'effet combiné d'une exposition à *Alexandrium catenella* et à des huîtres présumées porteuses de l'herpès virus sur des juvéniles d'huîtres *Crassostrea gigas*. 360 huîtres (4,09 g \pm 1,38 g de poids moyen) ont été placées dans 12 bacs de 20-l et soumises à un flux continu (20 ml min⁻¹) d'eau de mer filtrée complétée en phytoplancton. Les huîtres ont tout d'abord été acclimatées pendant quatre jours, avant d'être exposées pour la moitié des bacs (6) au dinoflagellé toxique *A. catenella* responsable du Paralytic Shellfish Syndrome (PSP). Les six autres bacs ont été alimentés avec un dinoflagellé non toxique *Heterocapsa triquetra*. A l'issue de la période d'acclimatation, dans la moitié des bacs exposés aux microalgues toxiques et témoin, des huîtres de même taille et de même provenance, mais ayant été transférées en Rade de Brest pendant un mois et présumées porteuses de l'herpès virus ont été ajoutées. Après quatre jours et neuf jours d'exposition aux microalgues et de cohabitation (ou non) avec des huîtres présumées porteuses de l'herpès virus, des prélèvements d'hémolymphe et de différents tissus ont été effectués, afin de mesurer la charge en pathogènes (herpès virus et vibrions), la charge toxinique (PST) mais aussi la réponse hémodocytaire et l'expression de certains gènes. Des coupes histologiques ont aussi été effectuées.

Une exposition à *A. catenella* se traduit par une augmentation de la concentration d'hémocytes circulants, en particulier des granulocytes et de la production de ROS. De même, une exposition à des huîtres présumées porteuses de l'herpès virus provoque aussi un accroissement de la production de ROS s'accompagnant d'une diminution du potentiel membranaire mitochondrial. Des effets combinés, comme par exemple l'augmentation drastique de la mortalité hémodocytaire chez les huîtres ayant subi une exposition à *A. catenella* et à des huîtres présumées porteuses de l'herpès virus (figure 1), ont été relevés. Il est à noter qu'aucune mortalité n'est apparue au cours de cette expérience, que ce soit chez les huîtres ayant séjourné en rade de Brest ou les huîtres « receveuses ». Les premières analyses d'herpès virus en qPCR montrent que les huîtres de la rade ont très peu de virus ce qui laisse supposer qu'il y a une réponse à des doses très faibles ou que ce sont d'autres agents comme les vibrions qui en sont la cause.

Cette plus grande sensibilité des huîtres pourrait expliquer des variations locales de taux de mortalité et /ou être des foyers de démarrage de l'infection.

Figure 1. Augmentation de la mortalité des hémocytes circulants (granulocytes et hyalinocytes) en présence à la fois d'*A. catenella* (Alex.) et d'huîtres présumées porteuses d'Herpès virus. Saines : huîtres naïves non exposées à des huîtres contaminées. Rade : huîtres exposées à des huîtres provenant de la rade.



MicroGigas: implication des populations microbiennes pathogènes et commensales dans la santé et la capacité de survie de l'huître *Crassostrea gigas*

J. De Lorgeril¹, E. Bachere¹, F. Pernet², P. Le Gall², D. Destoumieux-Garzon¹, R. Da Rosa¹, P. Got¹, M. Leroy¹, J-L. Jeannot¹, C. Teyssier¹, E. Jumas-Bilak¹

¹ UMR 5119 «Ecologie des systèmes marins côtiers», Ifremer, CNRS, IRD, Université Montpellier 2 et 1, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier

² Ifremer, Laboratoire Environnement Ressource du Languedoc-Roussillon, Pôle "Mer et Lagunes", Bd Jean Monnet BP 171 34203 Sète

Le projet MicroGigas, financé par l'INSU (2010-2011), propose de définir les variables explicatives de l'apparition d'épisodes de mortalité de l'huître *Crassostrea gigas* dans les élevages, et ce par la mise en place d'une approche intégrative mesurant les interactions entre milieu / microflore / et statut de santé des huîtres. Pour ce faire, une approche *in situ* a été développée permettant un suivi de la microflore, de l'état de santé des huîtres et des paramètres environnementaux au cours d'un épisode de mortalité dans la zone conchylicole de l'étang de Thau.

Ce suivi a permis de mettre en évidence, au moment de l'apparition des mortalités, une très forte augmentation de la microflore totale (quantitative et qualitative) avec une chute d'abondance de bactéries du genre *Vibrio* concomitant avec la détection d'un herpes virus (OsHV1) et un vibrion (*V. splendidus*) pathogènes d'huître. Dans cette étude, la détection de *V. splendidus* est basée sur l'amplification spécifique par PCR quantitative d'un facteur de virulence identifié chez une souche virulente (*V. splendidus* LGP32) et absent chez une souche non virulente (*V. tasmaniensis*). Par ailleurs, une identification de la microflore dominante totale par "Temporal Temperature Gel Electrophoresis" a permis de mettre en évidence que l'explosion de la microflore était associée à des bactéries de l'environnement côtier (*Bacillus sp.* et *Staphylococcus sp.*) qui s'accumulent chez les naissains par rapport à l'eau environnante ou à des adultes résistants. D'autre part, des résultats portant sur l'état de santé des huîtres, montrent des signatures d'expression de gènes caractéristiques de l'apparition des mortalités, déterminé par la mesure des taux d'expression d'une centaine de gènes identifiés comme sur exprimés chez des huitres survivantes à des infections expérimentales avec des vibrios virulents (*V. splendidus* et *V. aestuarianus*). Ainsi, des groupes de gènes semblent particulièrement d'intérêts pour caractériser une réponse efficace des huîtres ainsi que les fonctions affectées par les mortalités, comme (i) des gènes surexprimés chez des adultes résistants par rapport aux naissains en cours de mortalité et qui pourraient favoriser la survie, ou bien (ii) des gènes réprimés chez des naissains en cours de mortalité et qui constituent des cibles potentielles des agents infectieux. Outre ces différences d'expression entre naissains sensibles et adultes résistants, on peut noter que les naissains en cours de mortalité ne sont pas totalement immunodéprimés et présentent une réponse immunitaire comparable en certains points à celle des adultes résistants (induction de certains gènes immunitaires). Les variations observées en termes de microflore et d'état de santé des huitres coïncident au niveau environnemental à une montée rapide de la température de l'eau avec un déclenchement des mortalités à un seuil thermique de 16° C.

Afin de déterminer les variables ou interactions les plus explicatives de l'apparition des mortalités, le même type d'analyse est actuellement réalisé sur un autre suivi *in situ* des mortalités d'huitres sélectionnées comme résistantes (G3A: 50 % de survie sur l'étang de Thau en 2011) et des huîtres sensibles (100 % de mortalité). La confrontation de l'ensemble des données devrait permettre de définir le poids respectif de la microflore, de l'état de santé des huîtres et des paramètres environnementaux dans l'apparition des mortalités.

Laboratoires agréés et reconnus pour la recherche du virus OsHV-1 et de bactéries appartenant au genre *Vibrio*

T. Renault, C. Garcia, C. François, B. Guichard, J-P. Joly, J-F. Pépin, D. Saulnier, D. Tourbiez, M. A. Travers

Ifremer, Laboratoire de Génétique et Pathologie, 17390 La Tremblade, France

Dans le contexte des phénomènes de surmortalité d'huîtres creuses rapportés depuis 2008, deux réseaux de laboratoires réalisant des analyses ciblées pour la recherche d'agents pathogènes infectant les huîtres ont été mis en place :

- Un réseau de laboratoires agréés ayant pour objectif à terme d'accroître les capacités analytiques pour la réalisation d'analyses officielles,
- Un réseau de laboratoires reconnus ayant pour objectif à terme d'accroître les capacités analytiques pour la réalisation d'analyses d'autocontrôle.

Dans ce contexte, l'Ifremer (LGP La Tremblade) dans le cadre de ses missions de Laboratoire National de Référence (LNR) pour les maladies des mollusques marins a organisé à partir de 2008 trois sessions de transfert technique et trois essais de comparaison inter-laboratoire. Un quatrième essai de comparaison inter-laboratoire est en cours.

Les objectifs poursuivis étaient et sont de pouvoir disposer de méthodes officielles pour la détection d'OsHV-1 et de bactéries appartenant au genre *Vibrio* et de comparer les résultats obtenus par les différents laboratoires participants à partir d'échantillons de référence. Les essais de comparaison inter-laboratoire ont ainsi pour objectifs d'évaluer les performances des laboratoires et de surveiller le maintien de leurs performances.

Aujourd'hui, neuf laboratoires ont été agréés et treize reconnus par le Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, de la Ruralité et de l'Aménagement du Territoire.

L'analyse des transferts d'huîtres creuses peut-elle améliorer la stratégie de surveillance et de contrôle des maladies ?

C. Lupo¹, P. Ezanno², I. Arzul¹, C. François¹, C. Garcia¹, C. Jadot¹, J-P. Joly¹,
T. Renault¹, N. Bareille²

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

² ONIRIS-INRA, Atlanpôle, La chantrerie, BP 40706, 44307 Nantes Cedex 03

Les mouvements de populations animales sont considérés comme l'une des principales voies d'introduction ou de propagation d'une maladie infectieuse animale. Il est probable que les mouvements d'huîtres entre les différents bassins de production aient contribué à la propagation d'un agent pathogène dans les eaux littorales françaises en 2008. Les bancs d'élevage ostréicoles rassemblent souvent des concessions appartenant à plusieurs ostréiculteurs. Par conséquent, les populations d'huîtres élevées sur ces bancs sont en contact et peuvent se contaminer mutuellement. Plusieurs entreprises sont également en relation par le biais de flux d'animaux. Ces flux peuvent avoir lieu entre les bassins de production au niveau national voire international.

Les mesures de lutte contre les maladies sont très limitées dans les productions conchylicoles, les vaccins ou traitements médicaux n'étant pas envisageables. Ainsi, lors des hausses exceptionnelles de mortalités d'huîtres creuses observées dans tous les bassins de production ostréicole français à partir de 2008, les mesures de lutte ont été uniquement préventives visant à limiter la diffusion de la maladie. En l'absence de traçabilité précise des productions en élevage, des interdictions de mouvements d'huîtres creuses de toute classe d'âge entre les différents bassins de production ont été mises en place en 2009 puis en 2010.

Dans la plupart des productions animales terrestres, la connaissance des mouvements d'animaux permet leur analyse sous forme de réseaux de mouvements. Ces réseaux peuvent alors être caractérisés et étudiés en appliquant des méthodes d'analyse des réseaux sociaux dans un objectif d'aide à la surveillance et au contrôle des maladies animales.

En l'absence de données de mouvements disponibles pour la filière ostréicole, une enquête épidémiologique a été mise en place au cours de l'été 2010 afin de représenter la structure de contact des populations d'huîtres creuses et sa dynamique dans les pertuis charentais. Soixante-quinze exploitations ostréicoles ont été sélectionnées selon un plan de sondage aléatoire, stratifié en fonction du type d'exploitation au regard des transferts d'animaux. Un questionnaire standardisé a permis de collecter des données relatives au schéma général d'élevage des huîtres de chaque exploitation. L'enquête a présenté un taux de participation très satisfaisant de 85 % (64 visites sur 75 ostréiculteurs contactés). Des travaux en épidémiologie ont ensuite appliqué l'analyse des réseaux sociaux aux mouvements d'huîtres creuses observés dans les pertuis. Cette analyse a conduit à identifier les bancs d'élevage ostréicoles déployant le plus d'interactions au sein du réseau charentais. Ces bancs qui sont le lieu d'échanges de flux d'huîtres importants représentent un risque accru d'introduction (flux d'huîtres entrants) ou de diffusion (flux d'huîtres sortants) de maladies infectieuses. L'attribution d'un niveau de risque à chaque banc d'élevage d'huîtres en France permettrait d'adapter des mesures de gestion concrètes, adaptées et proportionnées à chaque niveau de risque.

Ces travaux pourraient ainsi contribuer à cibler dans le temps et dans l'espace les opérations de surveillance ou de contrôle des maladies infectieuses des huîtres creuses. Il s'agit d'un objectif finalisé d'aide à la décision à destination des gestionnaires du risque, les Directions départementales des territoires et de la mer, afin de prévenir la répétition d'éventuels scénarii similaires à celui de 2008.

Mortalités d'huîtres: un point hors de nos frontières et mesures de contrôle associées

I. Arzul, C. Lupo, C. Garcia, J-P. Joly, B. Guichard, T. Renault

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

Chez les coquillages, en raison de l'absence de signes cliniques, indicateurs potentiels d'une infection, une partie de la surveillance des maladies repose sur la déclaration obligatoire des cas de mortalité par les professionnels. Des analyses diagnostiques sont alors réalisées en laboratoire afin de rechercher des organismes pathogènes et de prendre si besoin des mesures appropriées de lutte sur le terrain.

A l'échelle européenne, la France est le pays pour lequel le plus grand nombre de cas de mortalités est déclaré (figure 1). Ces cas de mortalité concernent essentiellement le naissain d'huître creuse *Crassostrea gigas*. Or, l'ostréiculture européenne repose en grande partie sur le naissain produit en France. La détection du virus OsHV-1 μ var en association aux hausses de mortalités depuis 2008 a inquiété les pays importateurs, en particulier l'Irlande et le Royaume Uni. Des mortalités associées à OsHV-1 μ var ont été rapportées en Irlande et dans les Iles anglo-normandes en 2009, en Irlande et au Royaume Uni en 2010. Par ailleurs, OsHV-1 μ var est aussi détecté en absence de mortalité comme par exemple aux Pays Bas ou en Italie.

Afin d'harmoniser les mesures de contrôle vis-à-vis des hausses de mortalités d'huîtres creuses entre états membres, un règlement (No 175/2010) a été proposé à l'échelle européenne en 2010. Depuis fin avril 2011, les décisions 2011/187/EU et 350/2011 permettent aux Etats Membres qui le souhaitent de protéger les zones présumées indemnes d'OsHV-1 μ var.

Fin 2010, la Nouvelle Zélande et l'Australie ont notifié la détection d'OsHV-1 μ var lors de mortalité d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*. La caractérisation définitive de ces virus est en cours. En Nouvelle Zélande, le virus apparaît largement distribué dans la partie nord de l'Ile du Nord et a été détecté dans une écloserie de l'Ile du Sud. En Australie, seuls deux estuaires semblent concernés par les mortalités dans le New South Wales.

La détection d'OsHV-1 μ var à travers le monde soulève de nombreuses questions concernant les raisons de cette apparente émergence et implique la mise en place de mesures de détection et de contrôle adaptées à chaque situation.

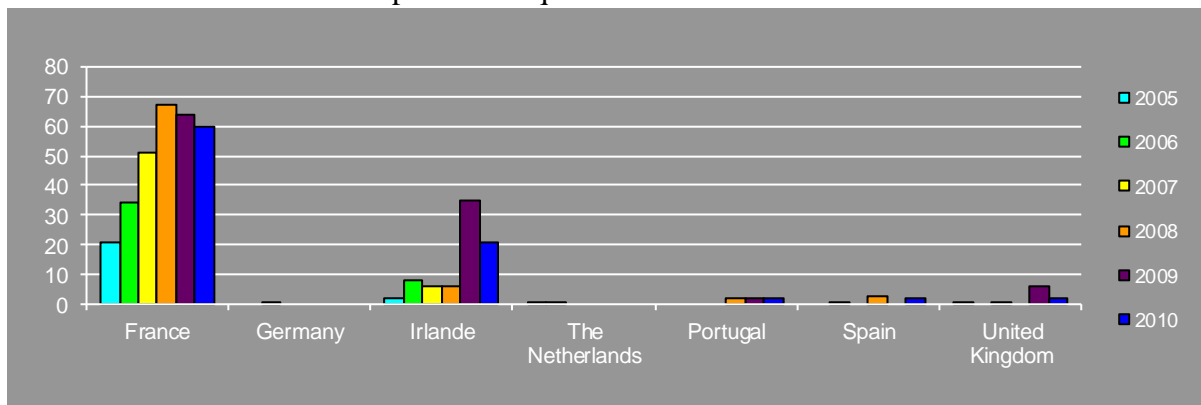


Figure 1. Nombre de cas de mortalité d'huîtres creuses étudiés sur la période 2005-2010 en Europe (seuls les pays ayant déclaré au moins un cas de mortalité sont figurés).

Efficacité des rayonnements UV dans l'inactivation du pouvoir infectieux du virus OsHV-1 μ var sur l'huître creuse *Crassostrea gigas*

J.-F. Pépin¹, S. Trancart¹, T. Renault¹, A. Osta Amigo¹, B. Petton²

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

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

Les mollusques bivalves sont des organismes filtreurs qui peuvent naturellement concentrer des micro-organismes, pathogènes ou non, présents dans les eaux marines. La maîtrise de ce risque vis à vis des agents infectieux nécessite une gestion intégrée de l'environnement de l'eau utilisée pour l'activité conchylicole. Dans le cadre des élevages de mollusques en milieux contrôlés (écloseries, micronurseries), le traitement de l'eau par rayonnement ultraviolet (UV) est très répandu. Cependant très peu de données sont disponibles sur ses effets vis à vis de l'herpès virus OsHV-1 qui affecte l'huître. Les principaux objectifs des travaux présentés ici sont de: déterminer les conditions qui permettent l'inactivation du pouvoir infectieux du virus en suspension dans l'eau par le rayonnement UV-C (« dose UV »); de tester l'efficacité de certaines conditions à différentes échelles lors d'essais expérimentaux. L'approche mise en œuvre a consisté à utiliser deux modèles hôtes/virus et d'y étudier les effets des radiations UV-C au travers du paramètre survie des animaux infectés. L'espèce hôte sélectionnée est l'huître creuse *Crassostrea gigas*, à deux stades de développement différents, larve ou naissain avec un agent infectieux, l'herpès virus OsHV-1 μ var. Des essais de transmission d'infections via l'eau circulante entre différents bacs avec ou sans UV ont été également réalisés.

Les résultats de la série d'essais menés en 2011 au LGP ont permis d'observer de manière répétée un fort effet des UV pour neutraliser le pouvoir infectieux du virus OsHV-1 μ var, en conditions expérimentales aux travers des épreuves virulentes. Aucune mortalité n'a été relevée pour les conditions « inactivées UV » chez les larves ou le naissain alors que la condition 'non traitée UV' provoquait des mortalités de 60 % à 100 %. Une inactivation efficace vis à vis du virus OsHV-1 a été obtenue pour toutes les « doses UV » comprises entre 3 et 30 mJ cm⁻². Le virus OsHV-1 présente une sensibilité forte aux UV-C.

Les résultats des essais menés indépendamment au LPI en 2011 vont dans le même sens. Ils montrent que les effluents des bacs avec des naissains infectés n'induisent pas de mortalité dans les bacs placés en aval lorsqu'ils sont soumis aux UV (naissain naïf en aval, 100 % de survie : figure 1) alors que les bacs recevant l'eau non traitée présentent une mortalité cumulée sur 37 jours de suivi de 54 % (figure 2).

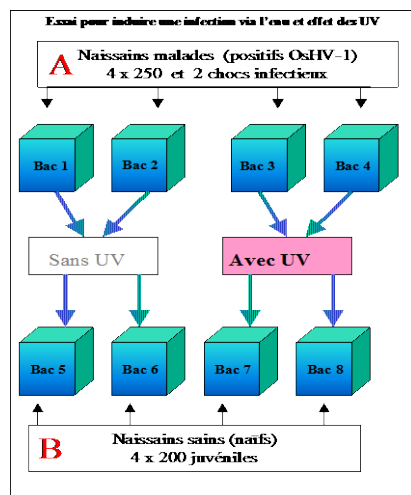


Fig. 1. Protocole de décontamination du naissain de *C. gigas*

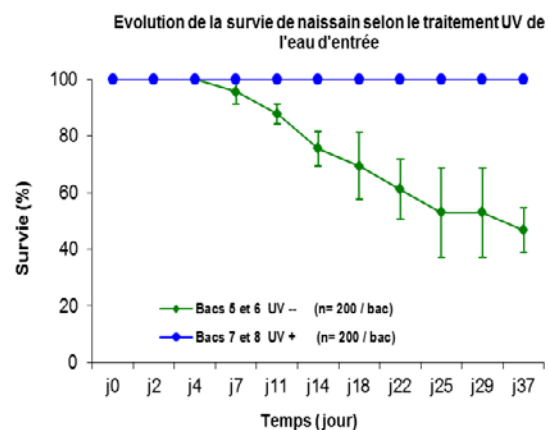


Fig. 2. Incidence de l'irradiation de l'eau de mer sur la survie du naissain de *C. gigas*.

Amélioration de la survie des juvéniles de *Crassostrea gigas* par la sélection

L. Degrémond¹ et al.²⁻¹⁰

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

² Ifremer LPI, ³ Ifremer LER Morbihan Pays de Loire, ⁴ Ifremer, LER Normandie,

⁵ Ifremer, LER Languedoc-Roussillon, ⁶ Ifremer, LER Arcachon,

⁷ SMEL, Syndicat Mixte pour l'Équipement du Littoral,

⁸ SMIDAP, Syndicat Mixte pour le Développement de l'Aquaculture et de la Pêches des Pays de la Loire

⁹ CEPRALMAR, Centre d'Etude et de Promotion des Activités Lagunaires et Maritimes en Languedoc-Roussillon

¹⁰ CREEA, Centre Régional d'Expérimentation et d'Application Aquacole

Une sélection massale pour l'amélioration de la survie a été initiée à partir de 2009 pour le lot R5 issu du programme MOREST. La seconde génération d'amélioration G2A a été produite en août 2010, ainsi qu'un lot témoin utilisant comme parents des huîtres sauvages échantillonnées en 2010. Les deux lots ont été testés à partir de mars 2011 dans dix-huit sites répartis en Méditerranée, Atlantique et Manche. En novembre 2011, la mortalité moyenne du lot témoin était de 86 % contre 18 % pour le lot R amélioré. Dans tous les sites, le lot R amélioré a montré des mortalités significativement plus faibles que le lot témoin, indiquant une réponse positive à la sélection pour l'amélioration de la survie au stade naissain. Enfin, la réponse à la sélection pour la survie (+30 à + 90 %) dépend du site d'élevage indiquant une interaction génotype-environnement.

En août 2010, un troisième lot a également été produit en croisant les parents du lot G2A avec les parents du lot témoin. Les trois lots ont ensuite été protégés des mortalités à la nurserie de Bouin, puis une partie de chaque lot a été transférée sur estran tous les mois entre mars et septembre 2011. D'autres lots G2A ont également été produits en février et avril 2011, puis transférés régulièrement sur estran de juin à septembre 2011. Les résultats acquis permettent d'apporter des informations supplémentaires pour l'étude des interactions entre les génotypes/âge/taille/environnement ainsi que pour l'étude de l'établissement de la résistance des populations d'huîtres *C. gigas* dans le cadre de programmes de réensemencement d'huîtres à survie améliorée dans des bassins naisseurs.

L'amélioration de la survie par sélection massale a également été initiée en 2009 pour deux populations sauvages. En février 2011, quatre lots de seconde génération d'amélioration (G2A), avec des intensités de sélection différentes, ont été produits pour chaque population, ainsi que leurs témoins respectifs non améliorés (G0A) et un témoin non consanguin produit à partir d'huîtres sauvages échantillonnées en 2010 dans le bassin de Marennes-Oléron. Ces lots ont été mis sur estran tous les mois de juin à septembre 2011. Pour 97 % des cas, il a été observé une meilleure survie pour les lots G2A par rapport à leur témoin G0A.

En mars 2011, 24 familles de demi-frères chacune représentée par 2 familles de plein-frères ont été produites ainsi qu'un témoin R5-G2A. Les familles ont ensuite été évaluées par plusieurs méthodes d'élevages sur estran en août 2011 afin d'optimiser les programmes de sélection basés sur l'approche de sélection familiale. De même, les familles ont été suivies en laboratoire et soumises à des challenges infectieux (OsHV-1 et *Vibrio sp*). A partir des données acquises, l'héritabilité et les corrélations génétiques seront estimées.

En janvier 2011, une sélection massale sur la croissance a été réalisée sur la G1 de trois populations sauvages en sélectionnant 1 à 5 % des animaux les plus gros et les 5 % les plus petits. Les descendants des lots produits et leurs témoins ont ensuite été testés sur estran à partir de septembre 2011 afin de déterminer s'il existe une différence de survie entre les animaux sélectionnés pour une forte ou faible croissance. Les premiers résultats seront présentés.

ASP, Amélioration via la Sélection et la Polypléidisation: cas du caractère survie des naissains de *C. gigas* vis à vis des surmortalités

A. Benabdelmouna, C. Ledu, E. Maurouard, C. Yonneau, M. Nourry, L. Dégremont

Ifremer LGP, Avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade

En 2011, la lignée diploïde améliorée (G2A) de *Crassostrea gigas* a montré, dans tous les environnements testés, des taux de survie très supérieurs à ceux des autres souches diploïdes, sauvages comme anciennement améliorées. Sachant que l'ostréiculture en France est basée sur l'utilisation conjointe de naissains diploïdes (sauvages ou d'écloserie) ou triploïdes, il est important d'étudier la possibilité du transfert du progrès génétique réalisé chez les diploïdes vers les triploïdes. L'action ASP a été entreprise en 2011 en deux étapes successives afin de répondre aux questions suivantes:

- Quel est l'impact du niveau de ploïdie sur la survie et dans quelle mesure le gain génétique réalisé chez les diploïdes est-il transférable, directement et via les tétraploïdes, vers les triploïdes?
 - Quel est l'avantage de combiner les deux approches: sélection génétique et polypléidisation?

Pour répondre à ces questions, plusieurs lots de naissains d'écloserie, diploïdes ou triploïdes, améliorés ou non améliorés pour la survie, ont été produits et élevés dans les mêmes conditions zootechniques. Ces lots, ainsi qu'un lot de captage naturel, ont été testés dans différents environnements et les résultats de survie montrent que:

- La survie d'un lot est indépendante de son niveau de ploïdie. Seul le fond génétique (amélioré ou pas) contrôle les performances de survie. Ainsi, les triploïdes non améliorés présentent les mêmes taux de mortalité que les diploïdes non améliorés qu'ils soient sauvages (de captage naturel) ou d'écloserie.
- Le progrès génétique des diploïdes est complètement transférable vers les triploïdes soit directement depuis la lignée diploïde G2A, soit indirectement via les tétraploïdes améliorés.
- Chez les triploïdes, les performances de survie sont contrôlées de façon quantitative par le fond génétique: l'augmentation du taux de survie va croissante avec le pourcentage total du fond génétique amélioré (de 33 à 100 %).
- A la fin de l'expérience, pour un kilogramme de naissain mis en élevage début 2011, le rendement final des lots 100 % améliorés (diploïdes comme triploïdes) est au minimum six fois supérieurs à celui des lots non améliorés (2n et 3n).

Ces résultats innovants de production de nouvelles souches améliorées d'huîtres creuses diploïdes et tétraploïdes ouvrent la voie pour une production à grande échelle de naissains triploïdes améliorés ayant les meilleures performances de survie. Suite à un accord entre Ifremer, la profession ostréicole et les autorités de tutelle, tous les naissains triploïdes du prochain plan d'approvisionnement de sauvegarde 2012 seront issus des nouveaux géniteurs sélectionnés et améliorés diploïdes et tétraploïdes que nous avons obtenus et caractérisés au terme de nos actions de recherche.

Mesurer un taux de survie : éléments méthodologiques

J. Normand¹, S. Parrad¹, C. Mary¹, J-L. Blin², T. Gauquelin², V. Lefebvre²

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

² SMEL, Zone d'Activités Conchylicoles, 50560 Blainville-sur-mer

Des travaux précédents ont mis en évidence l'existence d'une base génétique additive pour la résistance aux surmortalités de naissain. Dans le même temps, les études destinées à estimer les paramètres génétiques pour ce caractère ont abouti à des valeurs d'héritabilité très hautes, et relativement variables selon les conditions expérimentales. Le travail présenté ici visait à élaborer et tester un protocole spécifiquement dédié à l'estimation de tels paramètres. Les paramètres génétiques pour la survie sont, dans la grande majorité des cas, estimés par le différentiel des taux de survie entre lots issus de géniteurs différents et élevés au sein du même environnement. Dans le même temps, la promiscuité des individus dans les structures d'élevage et la nature contagieuse des phénomènes infectieux impliquent que la composante spatiale détermine étroitement la probabilité individuelle de déclarer la maladie. Un tel phénomène pourrait alors également entraîner une hétérogénéité de l'environnement de testage à très petite échelle.

Notre protocole devait donc viser l'estimation des différentiels de survie entre lignées sélectionnées, et non-sélectionnées, tout en considérant la variation des conditions de contagion à différentes échelles spatiales. Le matériel biologique consistait en un lot issu de plusieurs générations de sélection pour la survie (G2A) et de son témoin zootechnique. La variable considérée - une proportion d'individus vivants par unité d'élevage - devait théoriquement suivre une distribution de Poisson. Ceci imposait donc de répliquer les individus statistiques (les poches d'élevage) pour capturer la dispersion attendue du taux de mortalité. Six poches ont donc été déployées par modalité du plan d'expérimentation. L'effet d'une hétérogénéité spatiale à l'échelle de la table d'élevage a été pris en compte en procédant au tirage aléatoire des poches sur les tables ostréicoles. L'effet d'une structuration potentielle des probabilités de contagion à l'échelle de la poche a été spécifiquement étudié en testant les deux lots seuls, ou mélangés à l'intérieur des mêmes poches.

Les résultats montrent un différentiel de survie marqué entre les deux lots, et viennent s'ajouter aux précédentes études décrivant un déterminisme génétique pour la survie. Cet effet « génétique » interagit notamment avec la condition de testage « mélange » ou « seul », révélant un effet marqué de l'environnement intra-poche sur le différentiel de survie entre les lots G2A et Témoin. L'expression de la base génétique pour ce caractère semble donc en partie modulée par l'exposition des individus à la maladie. L'analyse des résultats montre également une corrélation significative des taux de survie des huîtres des deux lots à l'intérieur des poches en condition de mélange. Un tel résultat indique que la mortalité d'un ou plusieurs individus accroît la probabilité de déclarer la maladie pour les huîtres à l'intérieur de la même poche, renforçant ainsi l'hypothèse d'une structuration des probabilités de contagion à l'échelle de la structure d'élevage. Nous pensons que nos résultats encouragent à considérer ces différentes échelles dans les plans expérimentaux, en adoptant par exemple des procédures telles que le marquage et le mélange des lots. Les relations entre les probabilités de survie des individus pris séparément, et la dynamique des mortalités dans une structure d'élevage pourraient également faire l'objet d'études dédiées.

Mécanismes moléculaires et bases génétiques de la capacité de survie des huîtres *Crassostrea gigas* à des vibrioses : une exploration transcriptomique

R. Da Rosa¹, J. de Lorgeril¹, D. Piquemal², E. Bachère¹

¹ Ifremer, UMR 5119 ECOSYM «Ecologie des Systèmes Marins Côtiers », Université Montpellier 2, Place E. Bataillon, CC80, 34095 Montpellier Cedex 5

² Skuld-Tech, ZAC Euromedecine II, 1682, rue de la Valsière, 34790 Grabels

L'identification des mécanismes moléculaires et des bases génétiques de la résistance aux maladies suscite un intérêt majeur, tant en médecine humaine que vétérinaire. Au cours des dernières années, les approches de génomique ont permis de progresser sur la caractérisation du système immunitaire des huîtres, mais les bases génétiques et physiologiques qui déterminent la susceptibilité ou la résistance des huîtres à survivre des infections restaient encore méconnues.

Dans ce contexte, les objectifs des travaux de thèse de Rafael Da Rosa (nov2009-nov 2011) étaient, par des approches d'analyse du transcriptome, (i) d'identifier des gènes hématocytaires impliqués dans une réponse immunitaire efficace et dans la capacité de survie des huîtres à des infections par des *Vibrio* virulents et (ii) de rechercher des bases génétiques à cette capacité de survie.

L'approche de la DGE « Digital Gene Expression » a été développée. Pour cela, les hémocytes ont été prélevés chez des huîtres avant une infection par des *Vibrio* virulents (*V. splendidus* LGP32 et *V. aestuarianus* LPi 02/41) et deux banques DGE ont été générées à partir des ARN des individus ayant survécus ou n'ayant pas survécus à l'infection. L'exploration des banques a conduit à l'identification de gènes dont l'expression a été associée aux phénotypes contrastés de capacités de survie ou de non survie. Une analyse statistique du grand nombre de données générées a conduit à identifier un ensemble de 14 gènes dont l'expression basale peut prédire la capacité de survie des huîtres. Nous avons pu vérifier que les niveaux d'expression des gènes de la signature de survie (« 14-gene survival signature ») étaient bien associés à un trait génétique. En effet, ces gènes sont constitutivement exprimés chez les huîtres, et leur niveau d'expression basale élevé chez les huîtres ne résultent pas d'une stimulation microbienne préalable. Cette signature de survie est le résultat de mécanismes de régulation transcriptionnelle complexes qui implique notamment des variations du nombre de copies des gènes dans le génome des huîtres. Enfin, l'exploitation des données de DGE au niveau individuel par PCR quantitative à haut débit a mis également en évidence pour la première fois chez l'huître un très fort polymorphisme d'expression basale de gènes hématocytaires. De façon intéressante, ce polymorphisme d'expression se traduit également chez certains individus par une absence d'expression basale de certains gènes de l'immunité. Étudiée plus en détail pour différents membres de big-defensines (une nouvelle famille de peptides antimicrobiens) cette absence d'expression serait liée à un phénomène de présence/ absence des gènes codant (PAV).

En conclusion, ces travaux ont souligné la complexité du génome d'huître, du point de vue de l'organisation et des processus de régulation, se traduisant par : (i) un fort polymorphisme au niveau nucléotidique (ii) la présence d'allèles nuls, (iii) des variations du nombre de copies de gènes, ou CNV, et de variation de présence/absence de gènes ou PAV et (iv) un extraordinaire polymorphisme interindividuel d'expression basale des gènes.

Etude des possibilités d'acquisition d'une résistance génétique aux mortalités estivales des populations sauvages d'huîtres creuses : Bilan des actions 'PHENICS' et 'RESOR'

I. Bernard¹, S. Pouvreau¹, B. Petton¹, P. Le Souchu¹, C. Mingant¹, L. Le Brun¹, I. Queau¹, V. Quilien¹, A. Huvet¹, M. Plus², D. Maurer², G. Trut², I. Auby², O. Le Moine³, J. Grizon³, F. Dumas⁴, P. Boudry¹

¹ Ifremer, LPI, BP 70, 29280 Plouzané,

² Ifremer, LER/AR, Quai du Commandant Silhouette, 33120 Arcachon

³ Ifremer, LER/PC, BP 133, 17390 La Tremblade,

⁴ Ifremer, DYNECO/PHYSED, BP 70, 29280 Plouzané

Ce travail fait la synthèse de deux études s'intéressant au potentiel d'acquisition d'une résistance génétique au sein des populations d'huîtres creuses sauvages, résultat soit de sélection spontanée (action 'PHENICS' s'intéressant à la survie du naissain sauvage), soit de façon assistée (action 'RESOR' s'intéressant aux possibilités de repeuplement orienté).

Les résultats 2011 de l'action PHENICS montrent que, dans le milieu naturel, sur le site atelier de la rivière de Daoulas en Rade de Brest, un gain de résistance de plus de 10 % peut être mesuré entre les descendants d'huîtres survivantes et les descendants d'huîtres adultes sauvages âgées (> 6 ans) ayant été *a priori* épargnées (ou moins touchées) par le phénomène des mortalités lorsqu'elles étaient au stade naissain. Cette première démonstration du potentiel d'acquisition d'une résistance naturelle de l'huître creuse aux mortalités estivales devra évidemment être poursuivie sur d'autres années et d'autres milieux, mais elle est d'ores et déjà significative et conforte les résultats obtenues par sélection contrôlée.

Outre l'héritabilité du caractère de résistance et la pression de sélection, l'un des facteurs majeurs qui peut influencer la rapidité d'acquisition d'une résistance dans le milieu naturel est le brassage génétique lié à la dispersion des larves. En outre, la compréhension de la connectivité entre populations au sein d'un bassin conchylicole peut permettre d'envisager des opérations ciblées de réensemencement en populations génétiquement "améliorées". C'est

l'objectif de l'action 'RESOR', dont la phase 0, initiée en 2011 grâce au soutien de la DPMA, apporte des clés de compréhension de la dispersion des larves dans deux bassins clés pour le captage: les pertuis charentais et le bassin d'Arcachon. Ainsi, l'utilisation originale, en 2011, de bouées dérivantes a mis en évidence l'importance du vent et de la Charente sur les structures de dispersion dans les pertuis charentais. A Arcachon, l'expulsion des larves hors du bassin semble possible en vives eaux pour les bancs les plus proches des passes (figure 1).

D'après ces résultats, l'acquisition d'une résistance dans le milieu naturel apparaît possible mais sera certainement fortement modulée dans certains bassins par la connectivité entre populations et la pression de sélection. Une meilleure compréhension de ces facteurs permettra d'optimiser les futures opérations de repeuplement.

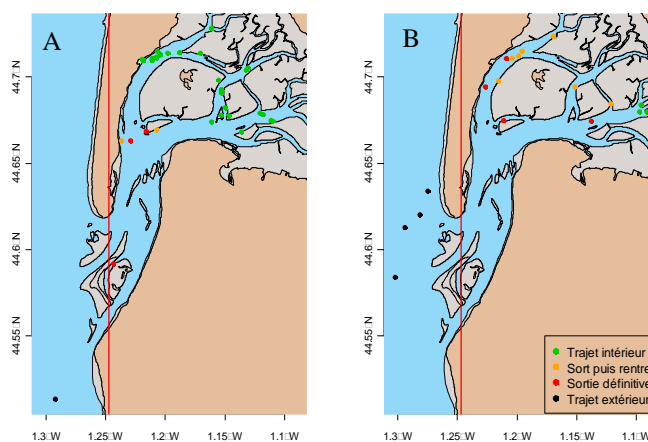


Figure 1. Points de départ et classification des trajets entre deux vives-eaux des bouées dérivantes dans le bassin d'Arcachon pour les coefficients inférieurs à 70 (A) et supérieurs à 70 (B). Le trait rouge délimite l'intérieur et l'extérieur du bassin d'Arcachon.