

Étude de l'écologie de *Marteilia refringens* et *Bonamia ostreae*, deux parasites protozoaires de l'huître plate *Ostrea edulis*

Nicolas Mérou

Sous la direction du Dr Isabelle Arzul et du Dr Stéphane Pouvreau

Le 23 février 2021

Thèse de Doctorat

Biologie des populations, de l'environnement et écologie

École doctorale 618 EUCLIDE – La Rochelle Université

Réalisée au LGPMM (IFREMER La Tremblade) et au LPI (IFREMER Argenton)

Introduction

Systemes hôtes-parasites

- **Parasitisme** : Interaction durable entre deux organismes au cours de laquelle seul l'un des deux (*le parasite*) retire un bénéfice de l'interaction, en exerçant éventuellement un impact négatif sur l'autre (*l'hôte*) (Combes *et al.* 2018).

Systemes hôtes-parasites

- **Parasitisme** : Interaction durable entre deux organismes au cours de laquelle seul l'un des deux (*le parasite*) retire un bénéfice de l'interaction, en exerçant éventuellement un impact négatif sur l'autre (*l'hôte*) (Combes *et al.* 2018).
- **Cycle parasitaire** : Ensemble des étapes biologiques permettant à un parasite de se retrouver dans un hôte définitif, il peut être **monoxène** ou **hétéroxène** (Combes *et al.* 2018).

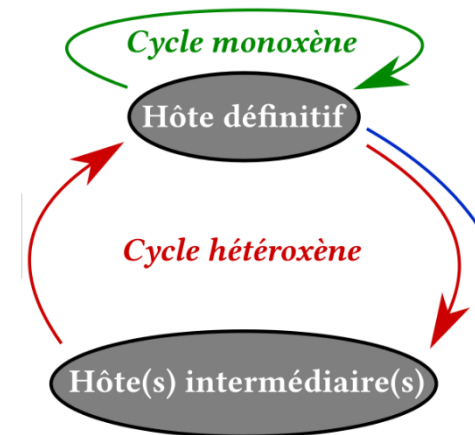
Systemes hôtes-parasites

- **Parasitisme** : Interaction durable entre deux organismes au cours de laquelle seul l'un des deux (*le parasite*) retire un bénéfice de l'interaction, en exerçant éventuellement un impact négatif sur l'autre (*l'hôte*) (Combes *et al.* 2018).
- **Cycle parasitaire** : Ensemble des étapes biologiques permettant à un parasite de se retrouver dans un hôte définitif, il peut être **monoxène** ou **hétéroxène** (Combes *et al.* 2018).



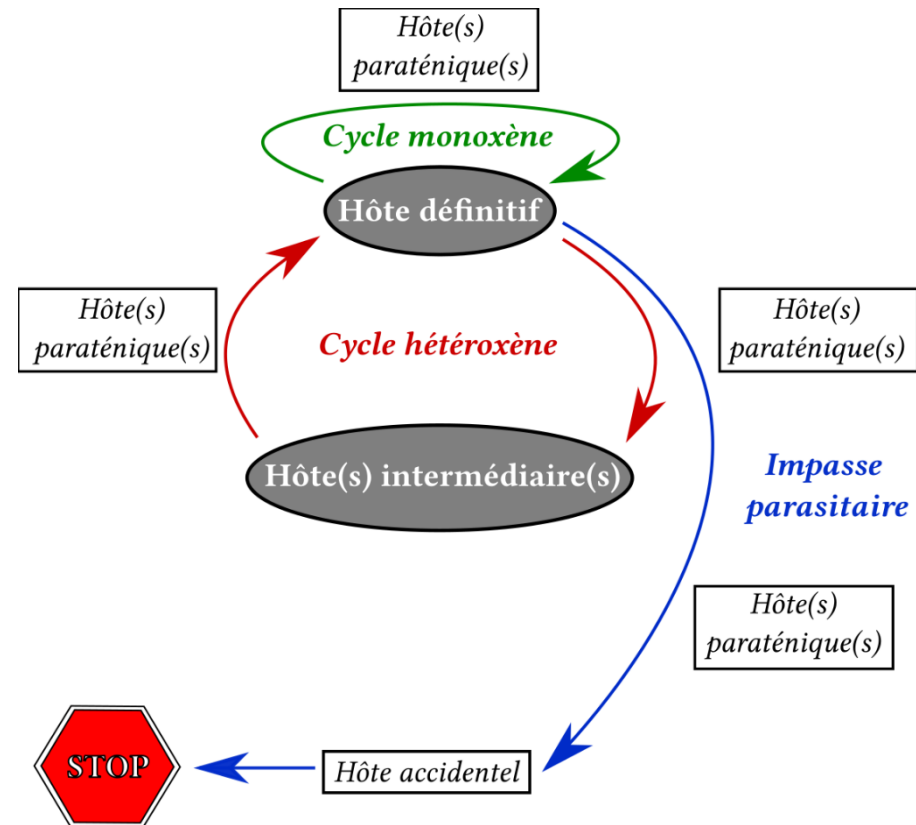
Systemes hôtes-parasites

- **Parasitisme** : Interaction durable entre deux organismes au cours de laquelle seul l'un des deux (*le parasite*) retire un bénéfice de l'interaction, en exerçant éventuellement un impact négatif sur l'autre (*l'hôte*) (Combes et al. 2018).
- **Cycle parasitaire** : Ensemble des étapes biologiques permettant à un parasite de se retrouver dans un hôte définitif, il peut être **monoxène** ou **hétéroxène** (Combes et al. 2018).



Systemes hôtes-parasites

- Parasitisme** : Interaction durable entre deux organismes au cours de laquelle seul l'un des deux (*le parasite*) retire un bénéfice de l'interaction, en exerçant éventuellement un impact négatif sur l'autre (*l'hôte*) (Combes et al. 2018).
- Cycle parasitaire** : Ensemble des étapes biologiques permettant à un parasite de se retrouver dans un hôte définitif, il peut être **monoxène** ou **hétero-xène** (Combes et al. 2018).





L'huître plate *Ostrea edulis*

- Espèce **native européenne**
- Consommée depuis l'**Antiquité**



L'huître plate *Ostrea edulis*

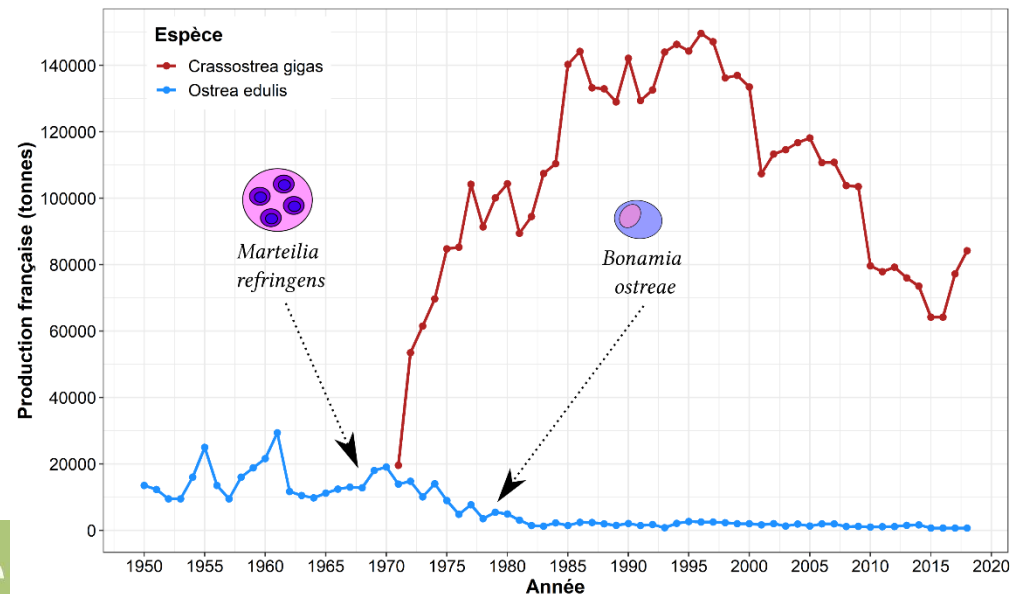
- Espèce **native européenne**
- Consommée depuis l'**Antiquité**
- **XVIII^{ème} siècle** : surexploitation des gisements naturels
- **XX^{ème} siècle** : mortalités





L'huître plate *Ostrea edulis*

- Espèce **native européenne**
- Consommée depuis l'**Antiquité**
- **XVIII^{ème} siècle** : surexploitation des gisements naturels
- **XX^{ème} siècle** : mortalités
- **Aujourd'hui** :
 - Production très faible
 - Inscrite liste OSPAR « espèces et habitats menacés »
 - Initiatives restauration



Pourquoi ... ?

Pourquoi ... ?

- Pourquoi s'intéresser à l'**huître plate** ?
 - Intérêt patrimonial : espèce native européenne
 - Intérêt économique : diversification de la production
 - Intérêt écologique : espèce ingénieure de l'écosystème



Pourquoi ... ?

- Pourquoi s'intéresser à l'**huître plate** ?
 - Intérêt patrimonial : espèce native européenne
 - Intérêt économique : diversification de la production
 - Intérêt écologique : espèce ingénieuse de l'écosystème

- Pourquoi s'intéresser aux **parasites** ?
 - Impact économique et écologique des maladies
 - Nombreuses études des parasites dans les huîtres plates
 - Études en dehors de l'huître : comprendre les cycles, les maladies et proposer des solutions de gestion

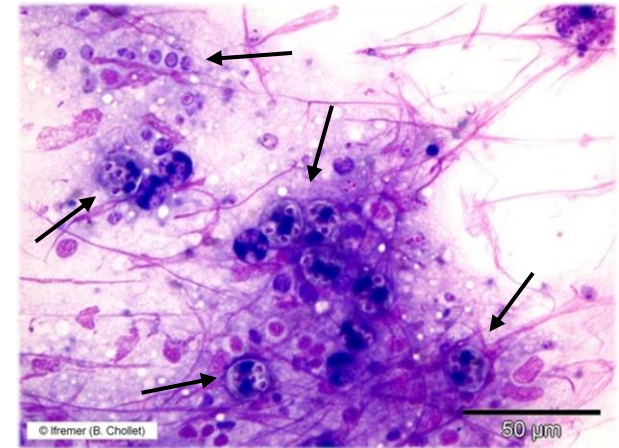


Le parasite *Marteilia refringens*

- **Taxonomie** : Cercozoa (Embranchement) / Ascetospora (Classe) / Paramyxida (Ordre)
- **Spectre d'hôtes** : Huître plate, moule, palourde, couteau

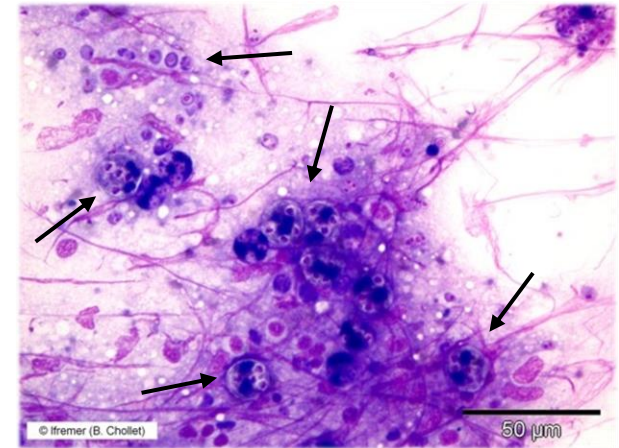
Le parasite *Marteilia refringens*

- **Taxonomie** : Cercozoa (Embranchement) / Ascetospora (Classe) / Paramyxida (Ordre)
- **Spectre d'hôtes** : Huître plate, moule, palourde, couteau
- **Cellules cibles** : Epithéliums digestifs
 - Œsophage / estomac : jeunes stades
 - Canaux et diverticules digestifs : formes sporulées



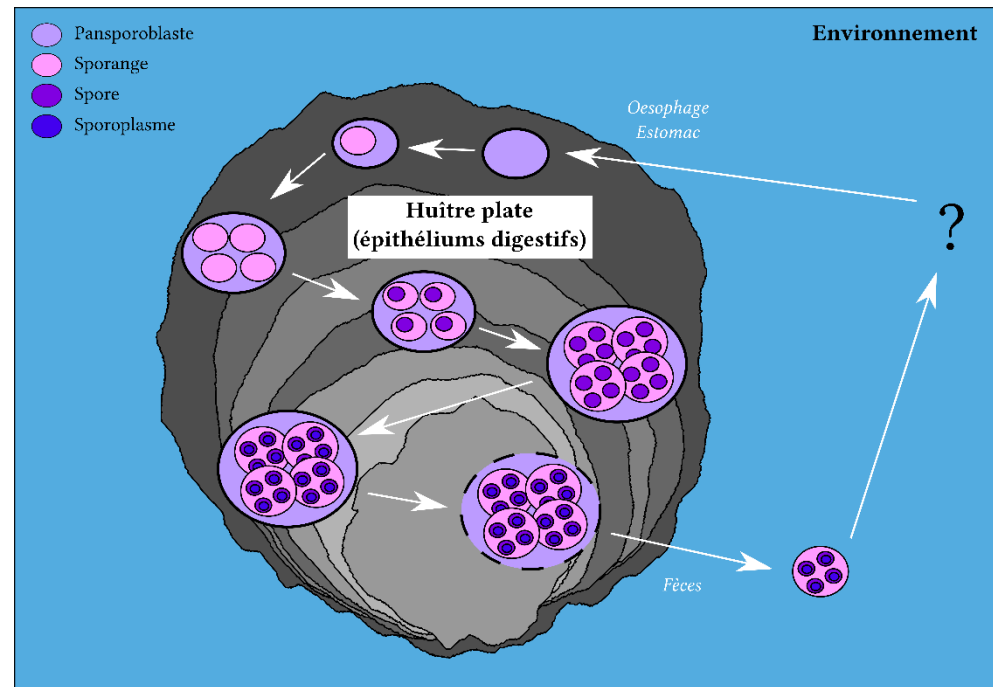
Le parasite *Marteilia refringens*

- **Taxonomie** : Cercozoa (Embranchement) / Ascetospora (Classe) / Paramyxida (Ordre)
- **Spectre d'hôtes** : Huître plate, moule, palourde, couteau
- **Cellules cibles** : Epithéliums digestifs
 - Œsophage / estomac : jeunes stades
 - Canaux et diverticules digestifs : formes sporulées
- **Distribution géographique** : Europe, bassin méditerranéen
- **Règlementation** : Déclaration obligatoire (UE et OIE)



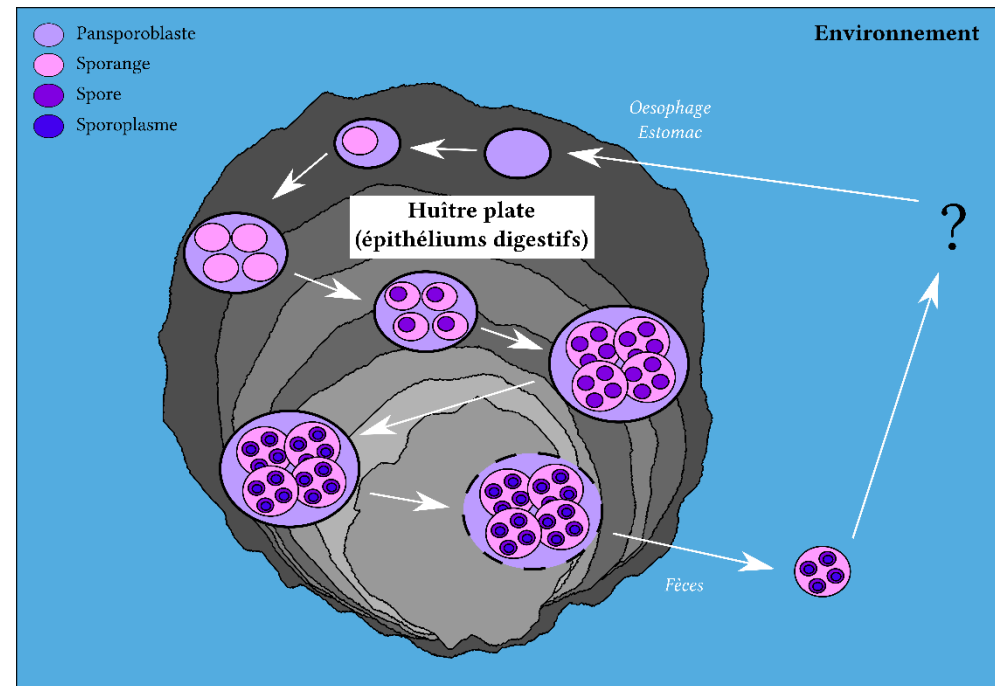
Le parasite *Marteilia refringens*

- **Entrée** : œsophage / estomac



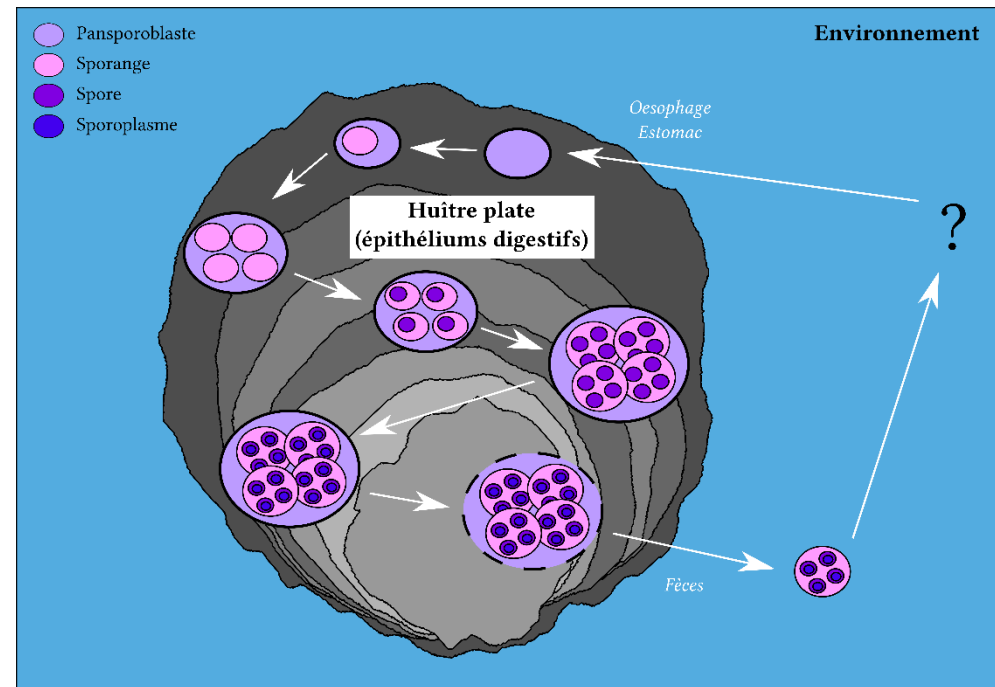
Le parasite *Marteilia refringens*

- **Entrée** : œsophage / estomac
- **Libération** : fèces



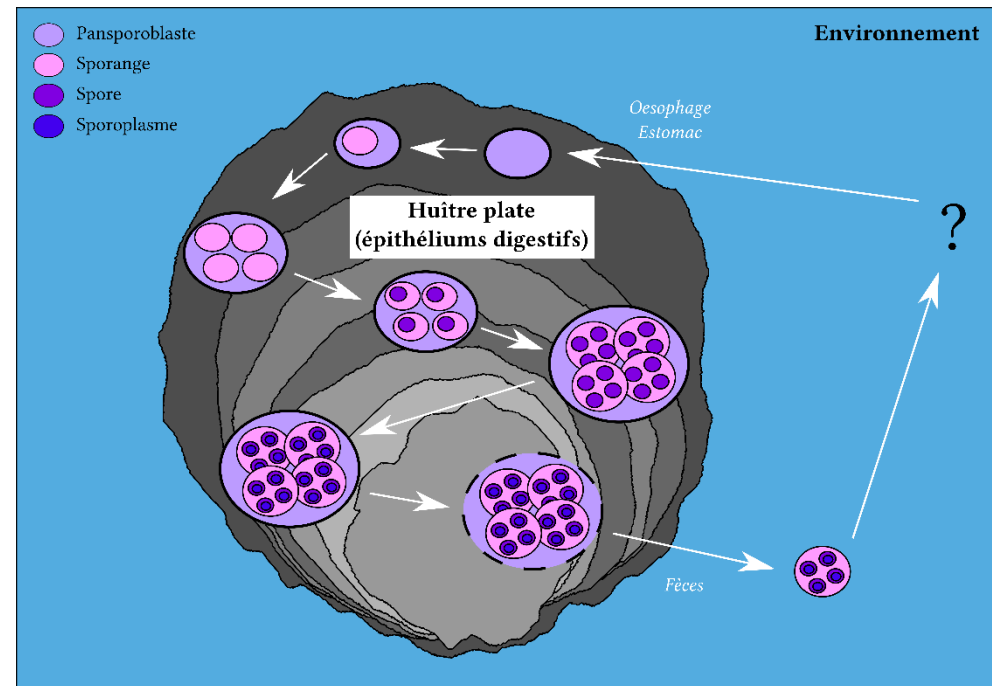
Le parasite *Marteilia refringens*

- **Entrée** : œsophage / estomac
- **Libération** : fèces
- **Transmission** : Probablement indirecte (*Paracartia grani*, *P. latisetosa*)



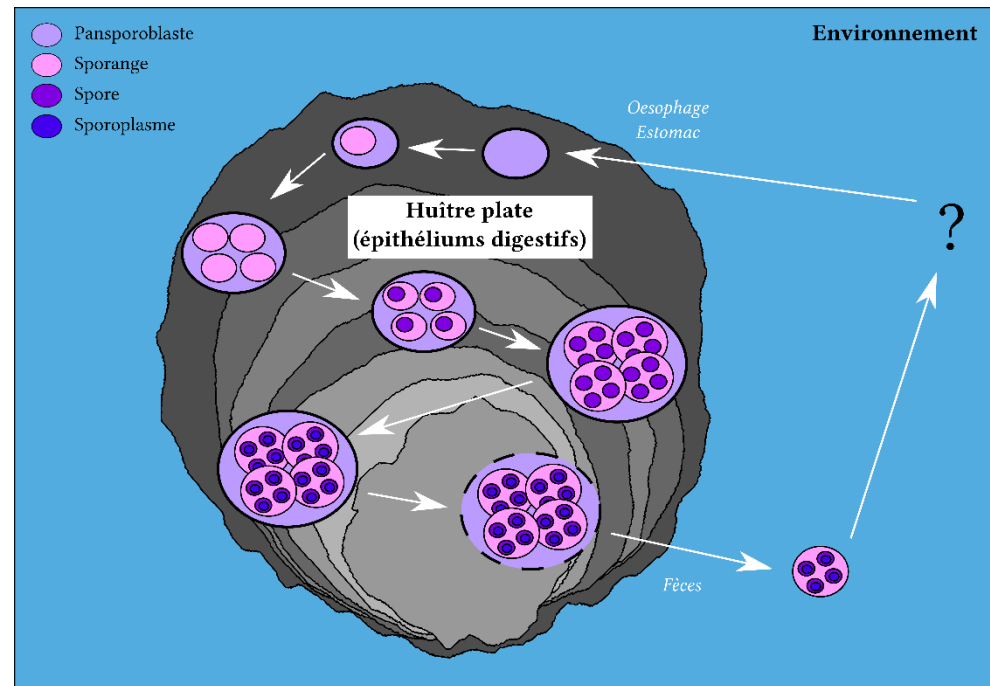
Le parasite *Marteilia refringens*

- **Entrée** : œsophage / estomac
- **Libération** : fèces
- **Transmission** : Probablement indirecte (*Paracartia grani*, *P. latisetosa*)
- **Saisonnalité** : Pic de prévalence en été – automne



Le parasite *Marteilia refringens*

- **Entrée** : œsophage / estomac
- **Libération** : fèces
- **Transmission** : Probablement indirecte (*Paracartia grani*, *P. latisetosa*)
- **Saisonnalité** : Pic de prévalence en été – automne
- **Cultivable** : Non

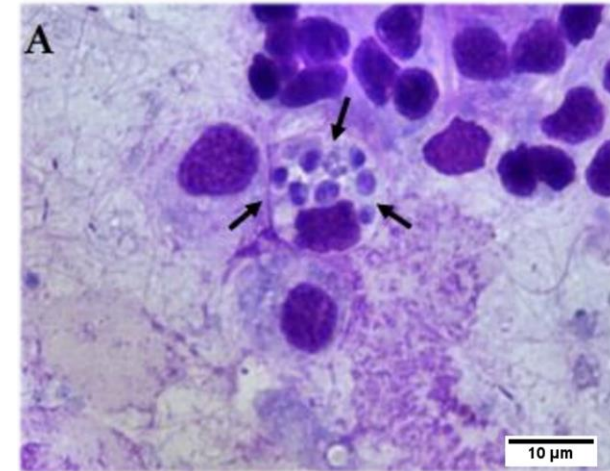


Le parasite *Bonamia ostreae*

- **Taxonomie** : Cercozoa (Embranchement) / Ascetospora (Classe) / Haplosporida (Ordre)
- **Spectre d'hôtes** : Huîtres plates, huître creuse

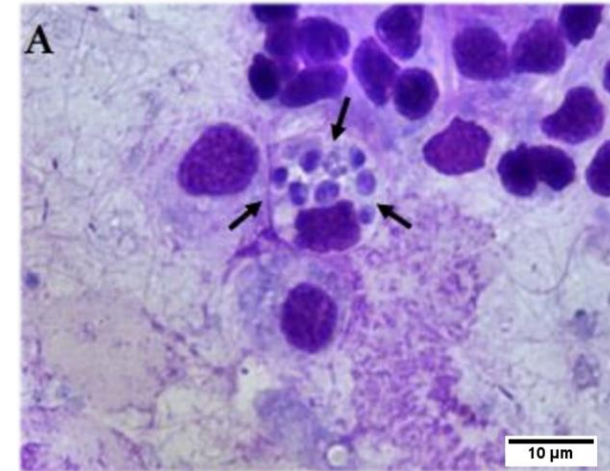
Le parasite *Bonamia ostreae*

- **Taxonomie** : Cercozoa (Embranchement) / Ascetospora (Classe) / Haplosporida (Ordre)
- **Spectre d'hôtes** : Huîtres plates, huître creuse
- **Cellules cibles** : Hémocytes



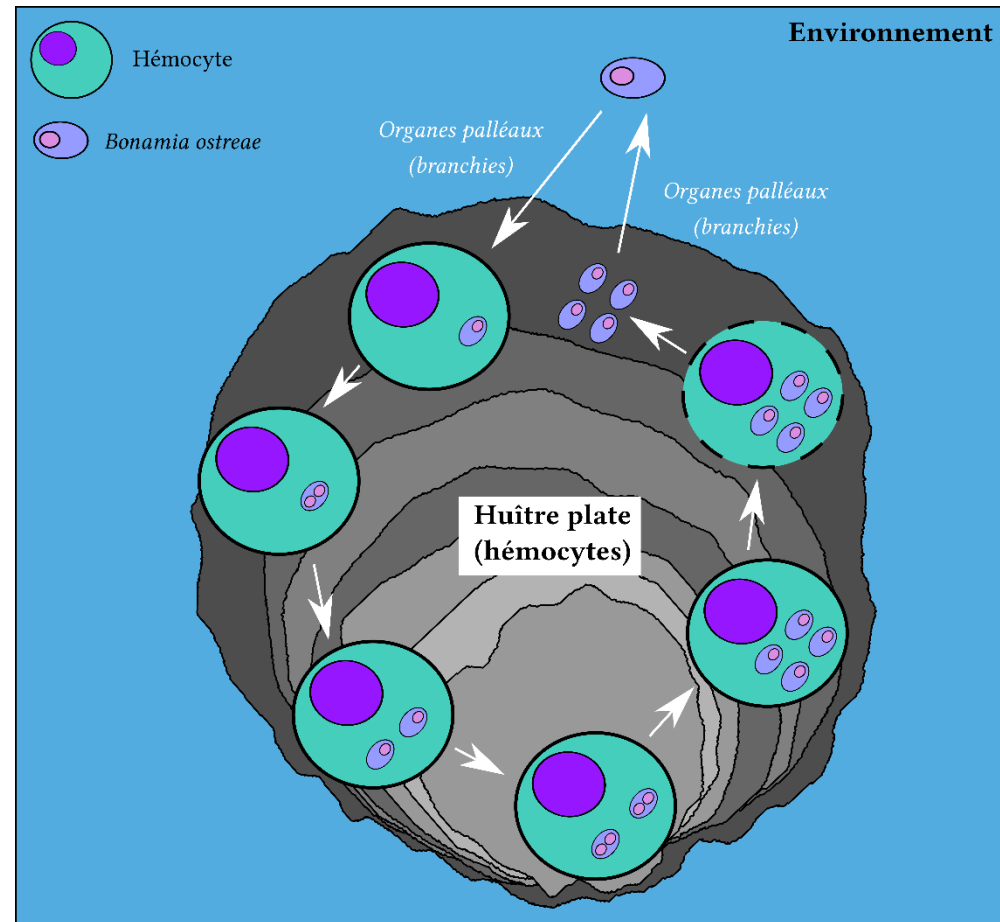
Le parasite *Bonamia ostreae*

- **Taxonomie** : Cercozoa (Embranchement) / Ascetospora (Classe) / Haplosporida (Ordre)
- **Spectre d'hôtes** : Huîtres plates, huître creuse
- **Cellules cibles** : Hémocytes
- **Distribution géographique** : Europe, Canada, Etats Unis, Nouvelle Zélande
- **Règlementation** : Déclaration obligatoire (UE et OIE)



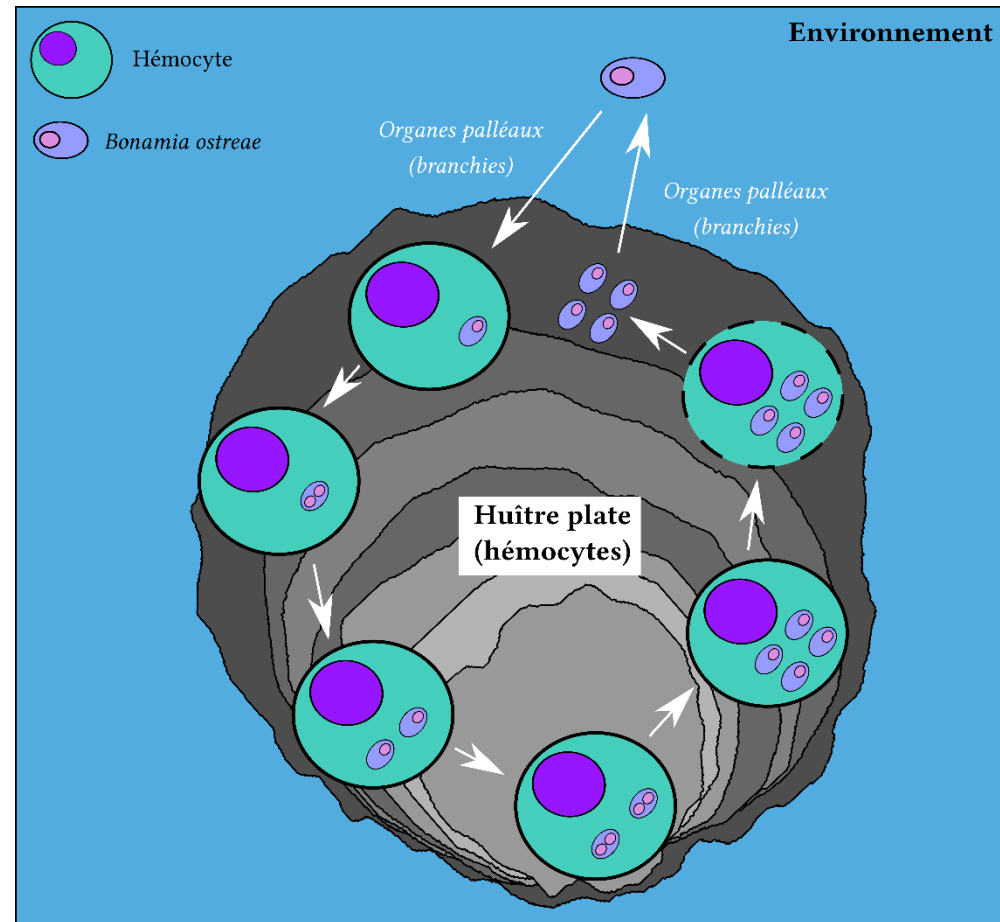
Le parasite *Bonamia ostreae*

- **Entrée** : organes palléaux



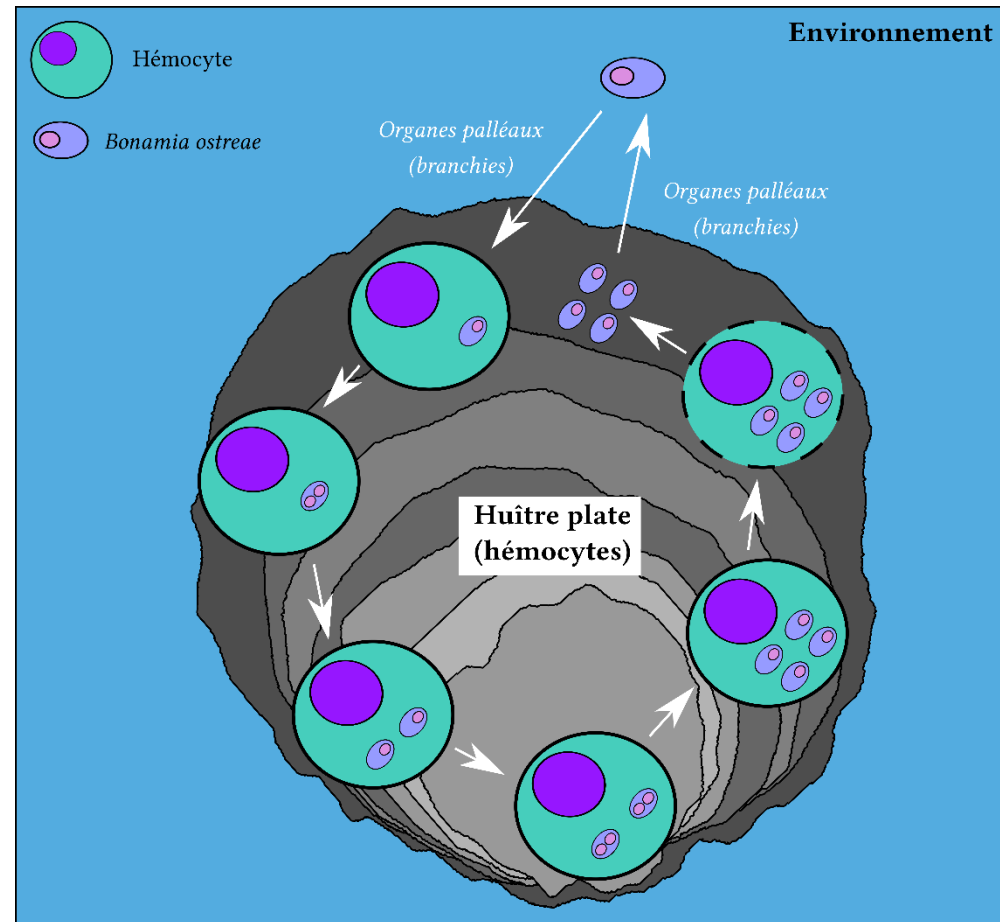
Le parasite *Bonamia ostreae*

- **Entrée** : organes palléaux
- **Libération** : organes palléaux



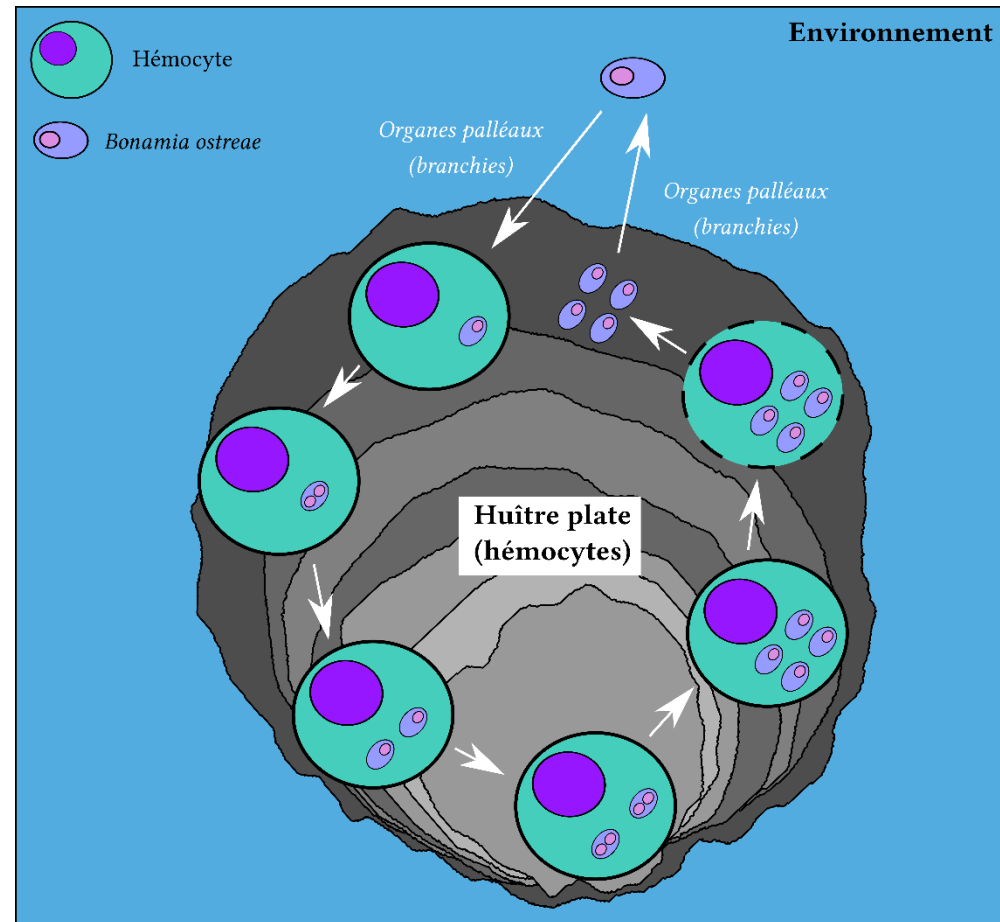
Le parasite *Bonamia ostreae*

- **Entrée** : organes palléaux
- **Libération** : organes palléaux
- **Transmission** : Directe (également larves + macroinvertébrés benthiques ?)



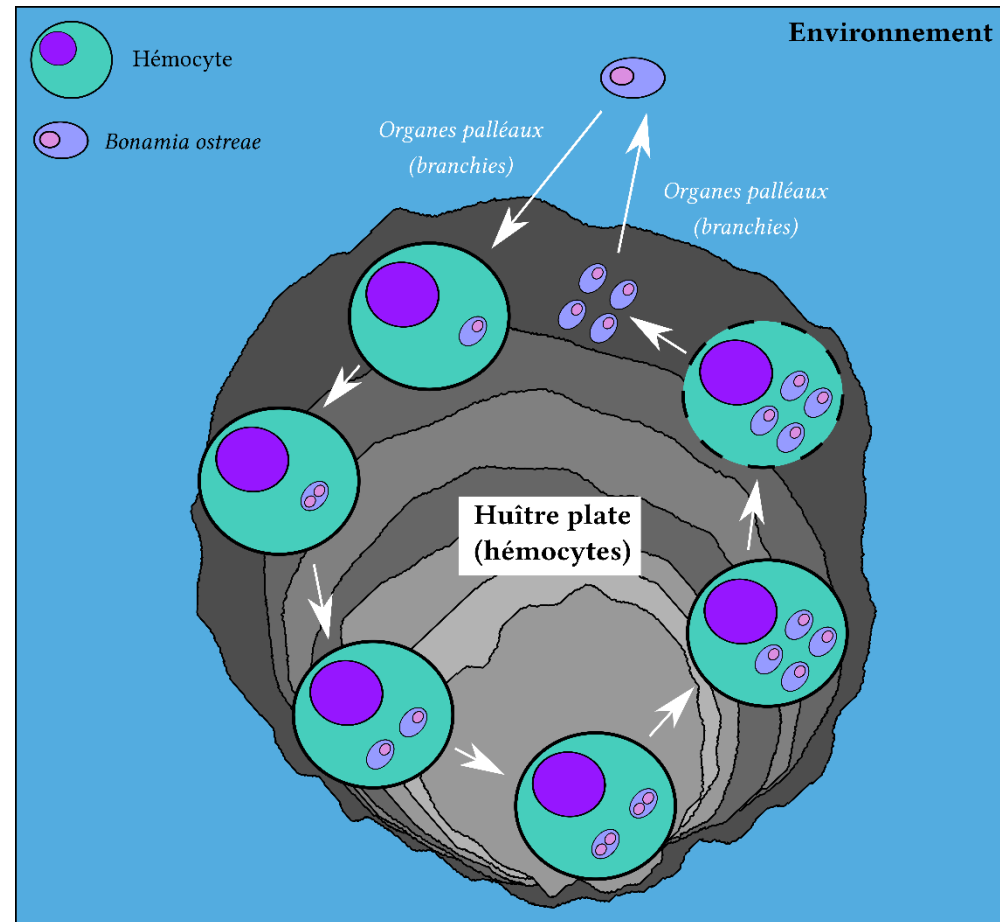
Le parasite *Bonamia ostreae*

- **Entrée** : organes palléaux
- **Libération** : organes palléaux
- **Transmission** : Directe (également larves + macroinvertébrés benthiques ?)
- **Saisonnalité** : Pic de prévalence en hiver – printemps





Le parasite *Bonamia ostreae*

- **Entrée** : organes palléaux
- **Libération** : organes palléaux
- **Transmission** : Directe (également larves + macroinvertébrés benthiques ?)
- **Saisonnalité** : Pic de prévalence en hiver – printemps
- **Cultivable** : Non

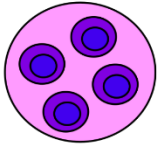


Les parasites *M. refringens* et *B. ostreae*

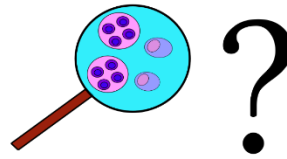
	<i>Marteilia refringens</i> 	<i>Bonamia ostreae</i> 
Tropisme	Épithéliums digestifs	Intrahémocytaire
Transmission	Indirecte	Directe
Cycle	Hétéroxène	Monoxène
Survie en dehors de l'huître plate	?	Environ 48 heures
Spectre d'hôtes	Large (huître plate, moule, palourde, couteau, copépodes)	Restreint (huître plate, huître creuse)
Saisonnalité	Été – automne	Hiver – printemps
Paramètres environnementaux	?	?
Distribution environnementale	Zooplancton	Macroinvertébrés benthiques (<i>Ophiothrix fragilis</i>)

Objectifs

*Marteilia
refringens*



AXE 1



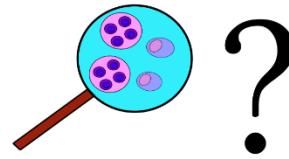
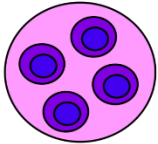
Approches analytiques pour étudier
l'écologie de *M. refringens* et *B. ostreae*

*Bonamia
ostreae*



AXE 1

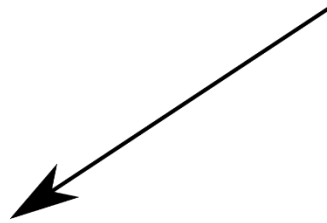
Marteilia refringens



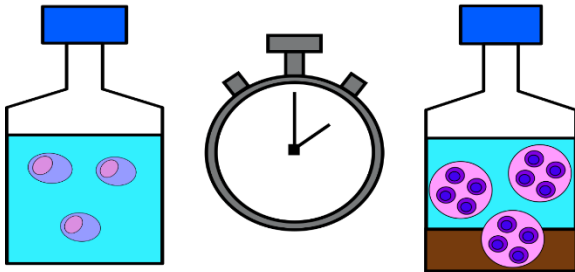
Bonamia ostreae



Approches analytiques pour étudier
l'écologie de *M. refringens* et *B. ostreae*

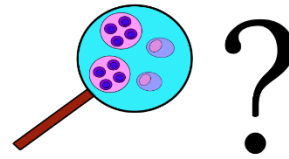


AXE 2

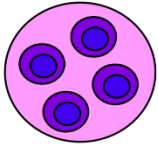


Etude de la survie
de *M. refringens* et *B. ostreae*
en conditions expérimentales

AXE 1



Marteilia refringens

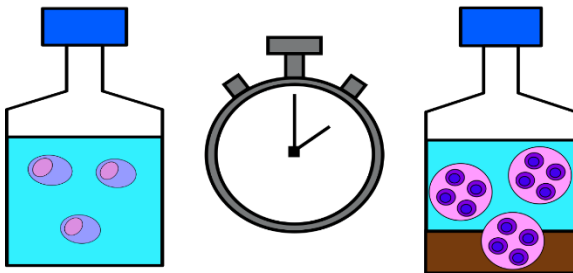


Bonamia ostreae



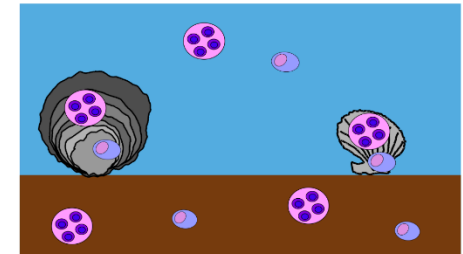
Approches analytiques pour étudier
l'écologie de *M. refringens* et *B. ostreae*

AXE 2



Etude de la survie
de *M. refringens* et *B. ostreae*
en conditions expérimentales

AXE 3



Etude *in situ* de la distribution
environnementale et de la
dynamique temporelle de
M. refringens et *B. ostreae*

Axe 1

-

Approches analytiques pour étudier
l'écologie de *M. refringens* et *B. ostreae*

Introduction

- **Objectif : Compléter le panel d'outils disponibles pour étudier l'écologie des parasites**

Introduction

- **Objectif : Compléter le panel d'outils disponibles pour étudier l'écologie des parasites**

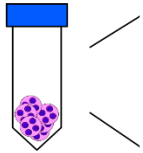
- Parasites non cultivables → approches analytiques moléculaires

Introduction

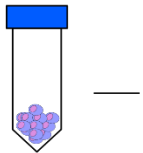
- **Objectif : Compléter le panel d'outils disponibles pour étudier l'écologie des parasites**
- Parasites non cultivables → approches analytiques moléculaires
- *M. refringens* : Détection / quantification d'ADN dans l'eau et le benthos (sédiment marin inerte + organismes < 1 mm)
- *B. ostreae* : Détection / quantification d'ADN et d'ARN dans l'eau



Matériel et méthodes

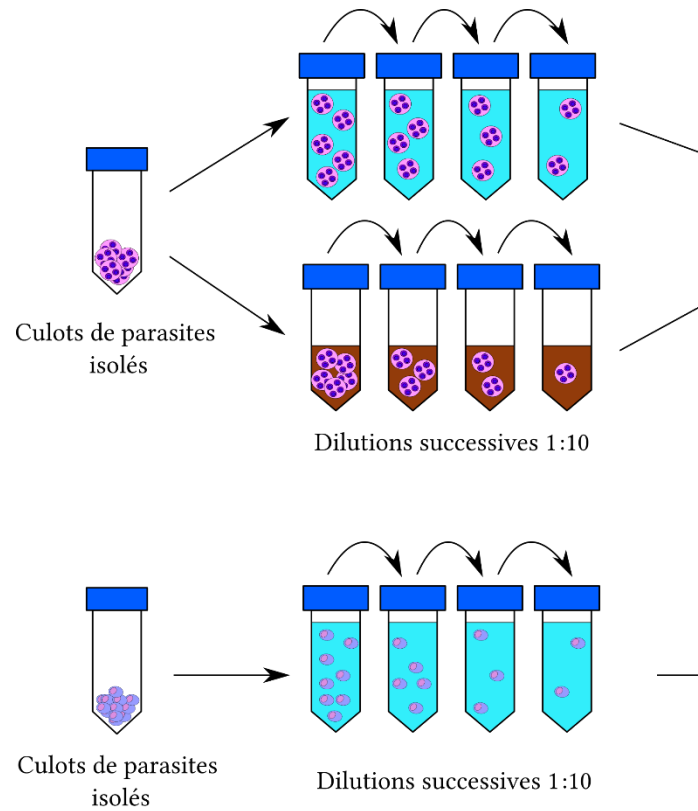


Culots de parasites
isolés

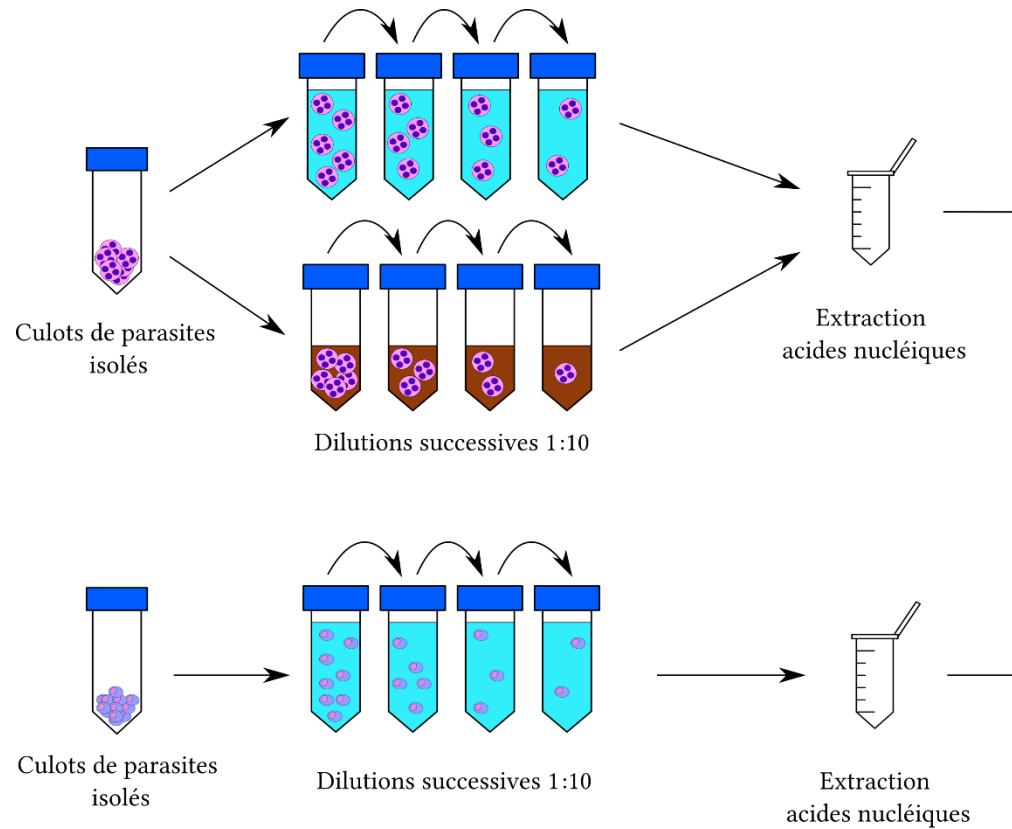


Culots de parasites
isolés

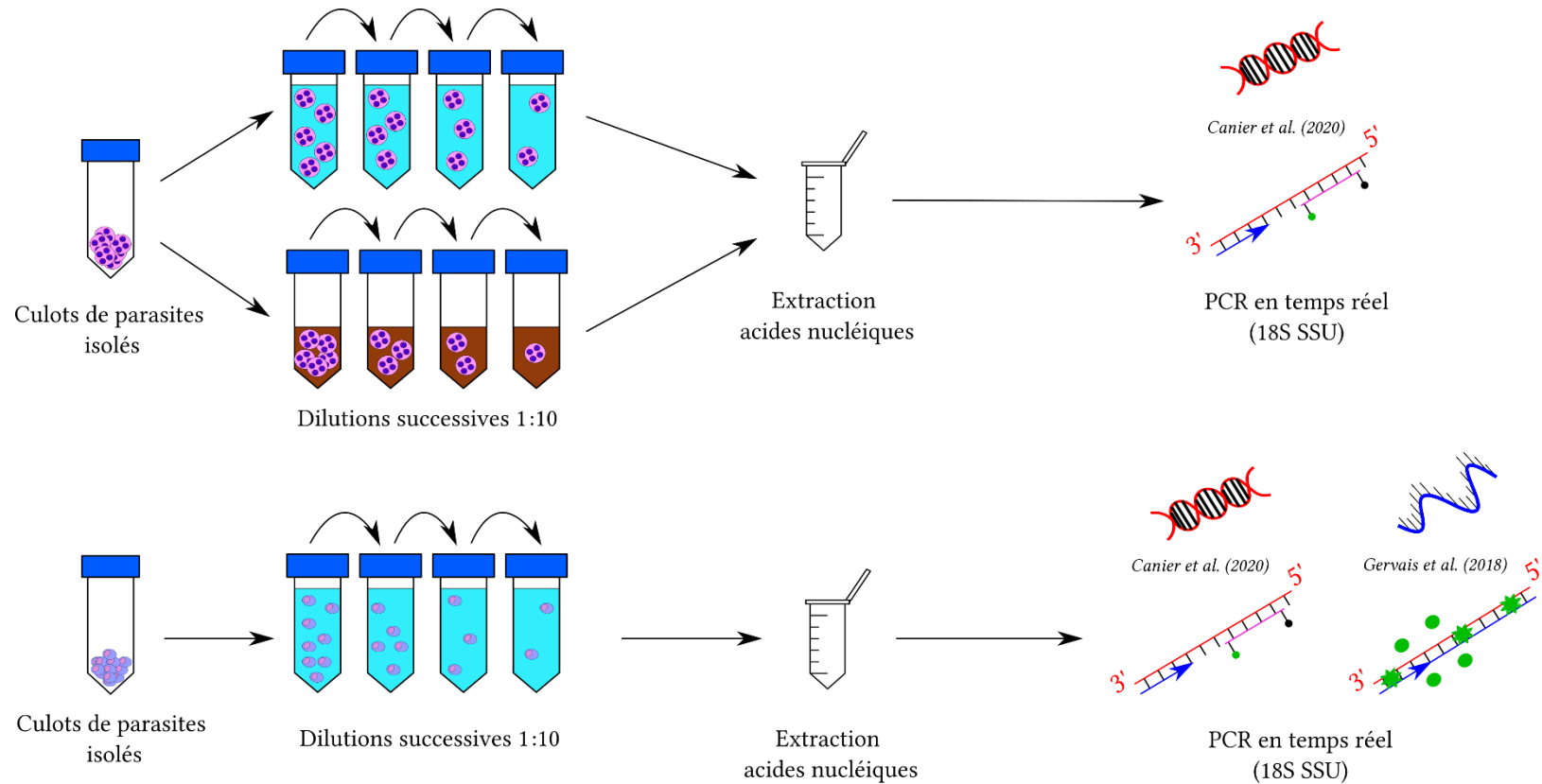
Matériel et méthodes



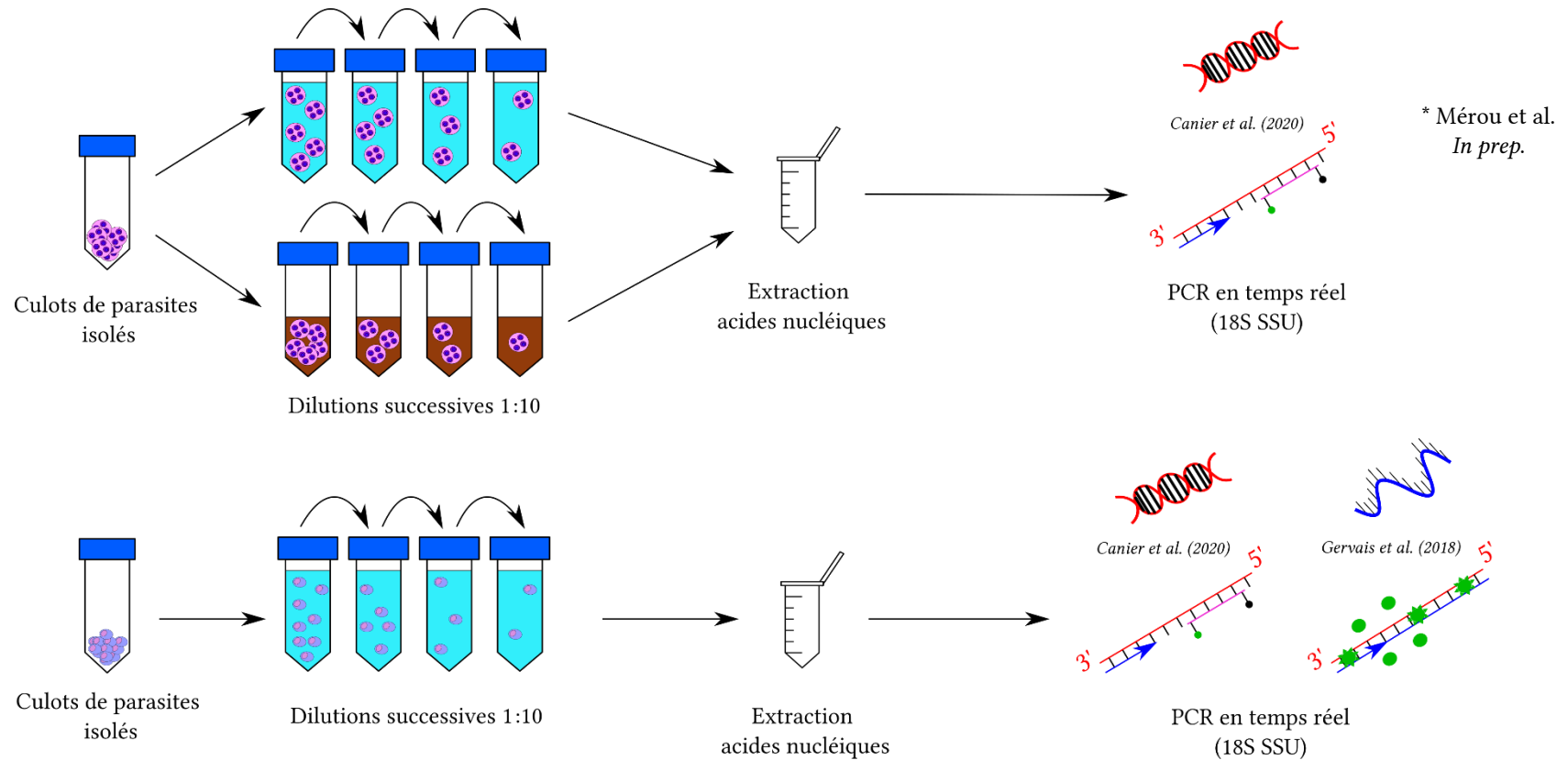
Matériel et méthodes



Matériel et méthodes

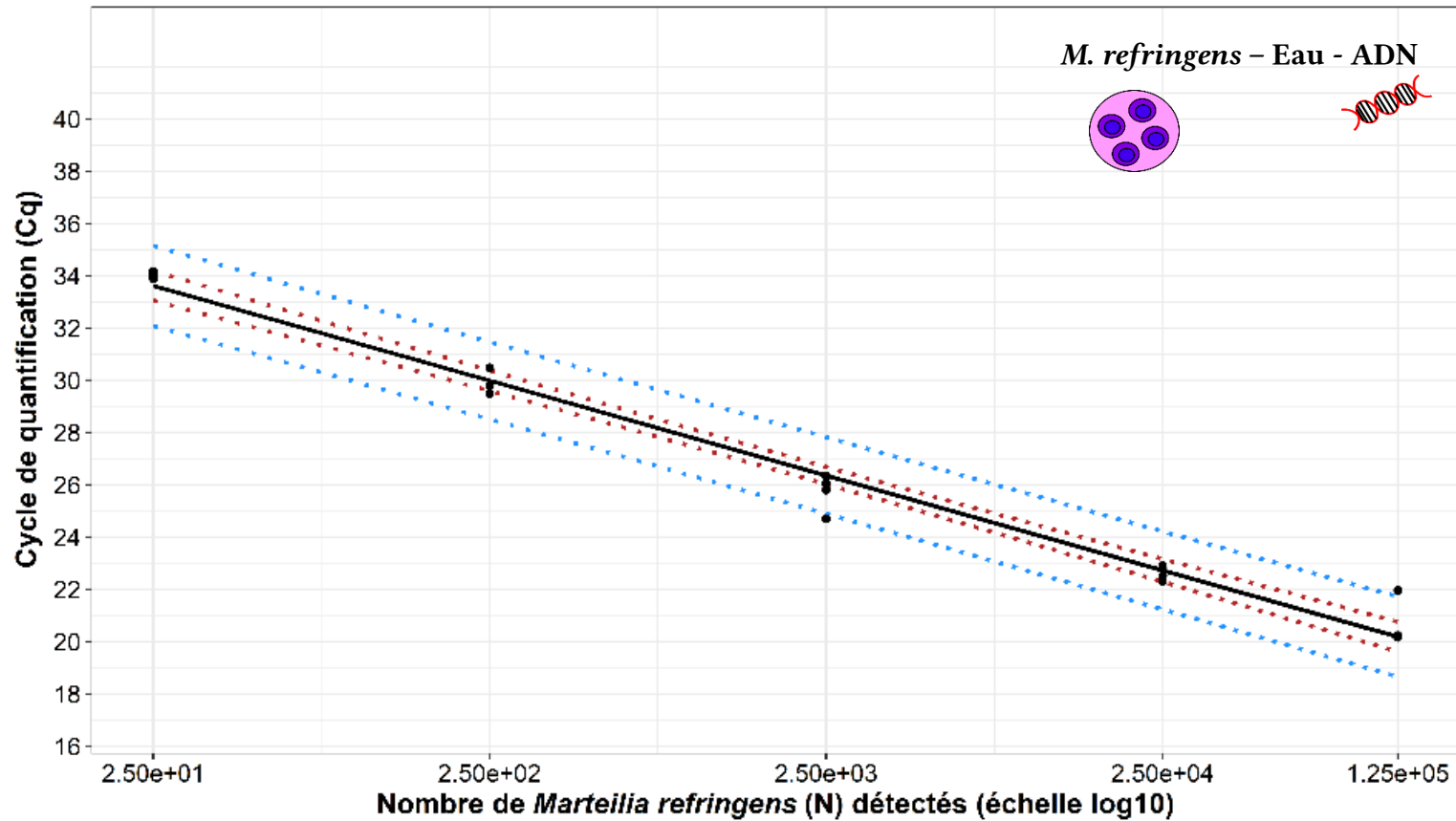


Matériel et méthodes



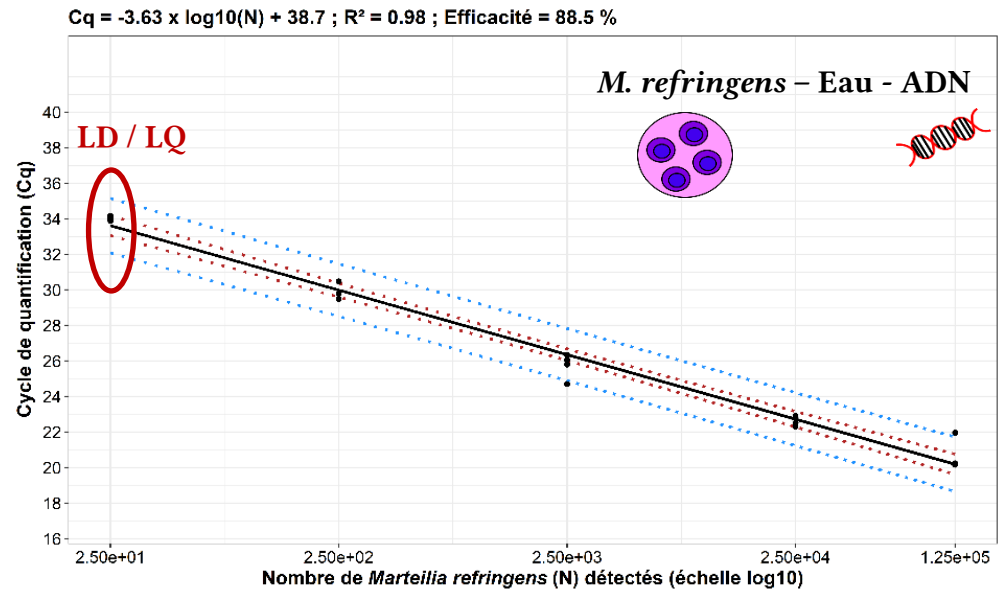
Résultats

$Cq = -3.63 \times \log_{10}(N) + 38.7$; $R^2 = 0.98$; Efficacité = 88.5 %



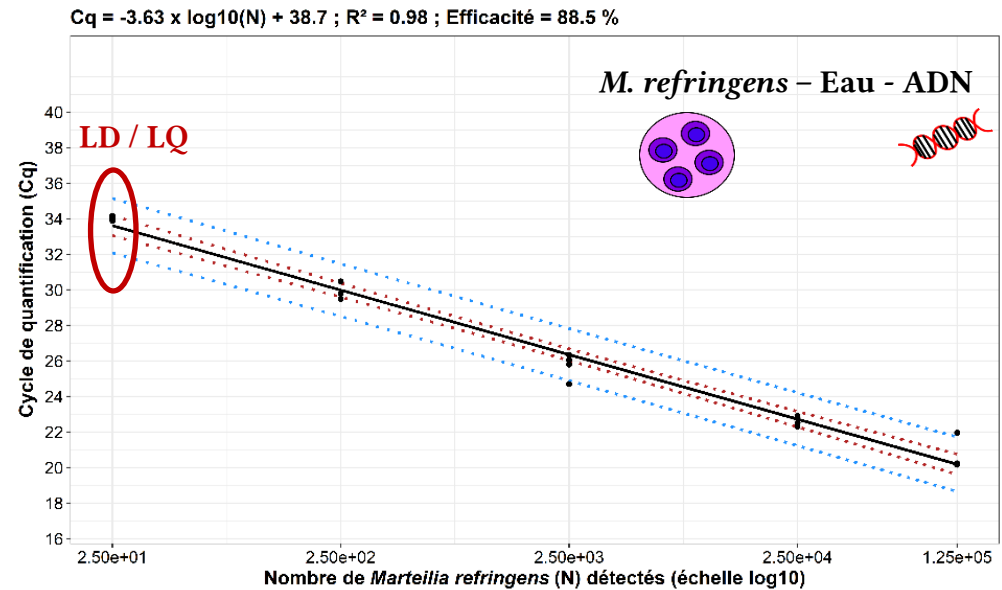
Résultats

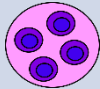





- **Limite de détection (LD) :**
Plus petite quantité détectée dans plus de 75% des réplicats
- **Limite de quantification (LQ) :**
Plus petite quantité détectée dans la partie linéaire de la courbe standard
- **Efficacité (%) :** $(10^{-1/a} - 1) * 100$



Résultats

- **Limite de détection (LD) :**
Plus petite quantité détectée dans plus de 75% des réplicats
- **Limite de quantification (LQ) :**
Plus petite quantité détectée dans la partie linéaire de la courbe standard
- **Efficacité (%) :** $(10^{-1/a} - 1) * 100$



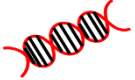

Cible	Matrice	LD / LQ	Efficacité
<i>Marteilia refringens</i> 	Eau * 	25 parasites	88 %
	Benthos * 	10 parasites	96 %
<i>Bonamia ostreae</i> 	Eau (ADN) + 	7,5 parasites	93 %
	Eau (ARN) + 	0,75 parasites	80 %

* Mérou et al. « Out of the flat oyster *Ostrea edulis* : what happens to the parasite *Marteilia refringens* ». In prep.

+ Mérou et al. 2020 « An eDNA / eRNA based approach to investigate the life-cycle of non cultivable shellfish microparasites ». *Microbial Biotechnology*.

Conclusion

Des outils ...

- Sensibles
 - Efficaces
 - Comparables à d'autres approches analytiques 
-  • ADN *M. refringens* et *B. ostreae* dans l'huître plate (Roberts et al., 2009, Canier et al., 2020)
- ADN *P. marinus* dans l'eau (Audemard et al., 2004)

Conclusion

Des outils ...

- Sensibles
- Efficaces
- Comparables à d'autres approches analytiques 



- ADN *M. refringens* et *B. ostreae* dans l'huître plate (Roberts et al., 2009, Canier et al., 2020)
- ADN *P. marinus* dans l'eau (Audemard et al., 2004)



Détection d'ARN de *B. ostreae* (ARNr 18S SSU)

- Complète approche analytique de détection d'ADN
- Meilleure sensibilité

Axe 2

-

Étude de la survie de *M. refringens* et *B. ostreae* en conditions expérimentales



Introduction

- Devenir parasites en dehors de l'huître plate et paramètres épidémiologiques méconnus

Introduction

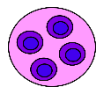
- Devenir parasites **en dehors** de l'huître plate et paramètres épidémiologiques méconnus
- **Objectif : Etudier la survie des parasites en dehors de l'huître plate en conditions expérimentales**

Introduction

- Devenir parasites **en dehors** de l'huître plate et paramètres épidémiologiques méconnus
- **Objectif : Etudier la survie des parasites en dehors de l'huître plate en conditions expérimentales**
-  *M. refringens* : survie dans l'eau et les fèces d'huîtres plates
-  *B. ostreae* : survie dans l'eau
 - 48 heures ? (*Arzul et al., 2009*)

Introduction

- Devenir parasites **en dehors** de l'huître plate et paramètres épidémiologiques méconnus
- **Objectif : Etudier la survie des parasites en dehors de l'huître plate en conditions expérimentales**

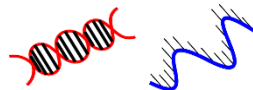
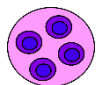


- *M. refringens* : survie dans l'eau et les fèces d'huîtres plates

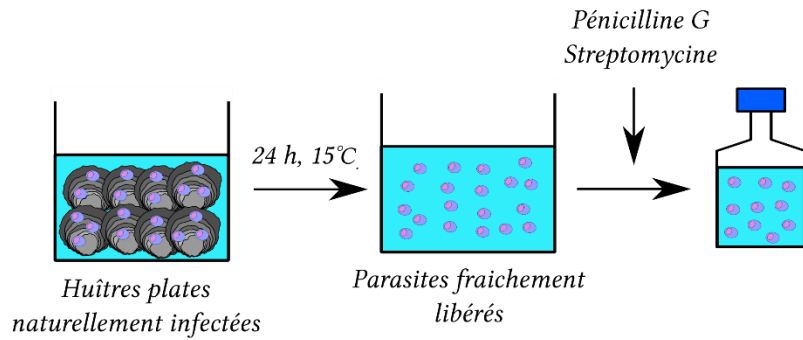
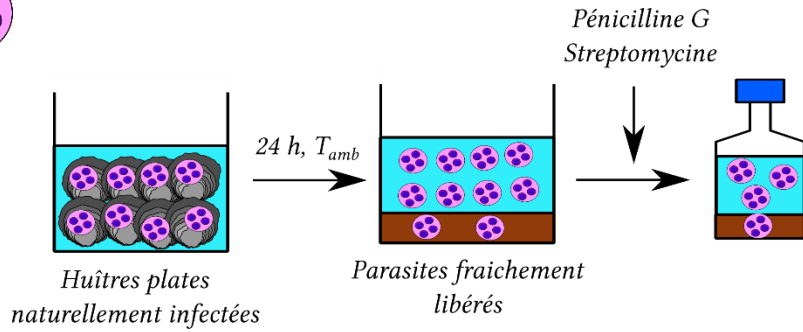
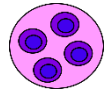


- *B. ostreae* : survie dans l'eau
 - 48 heures ? (*Arzul et al., 2009*)

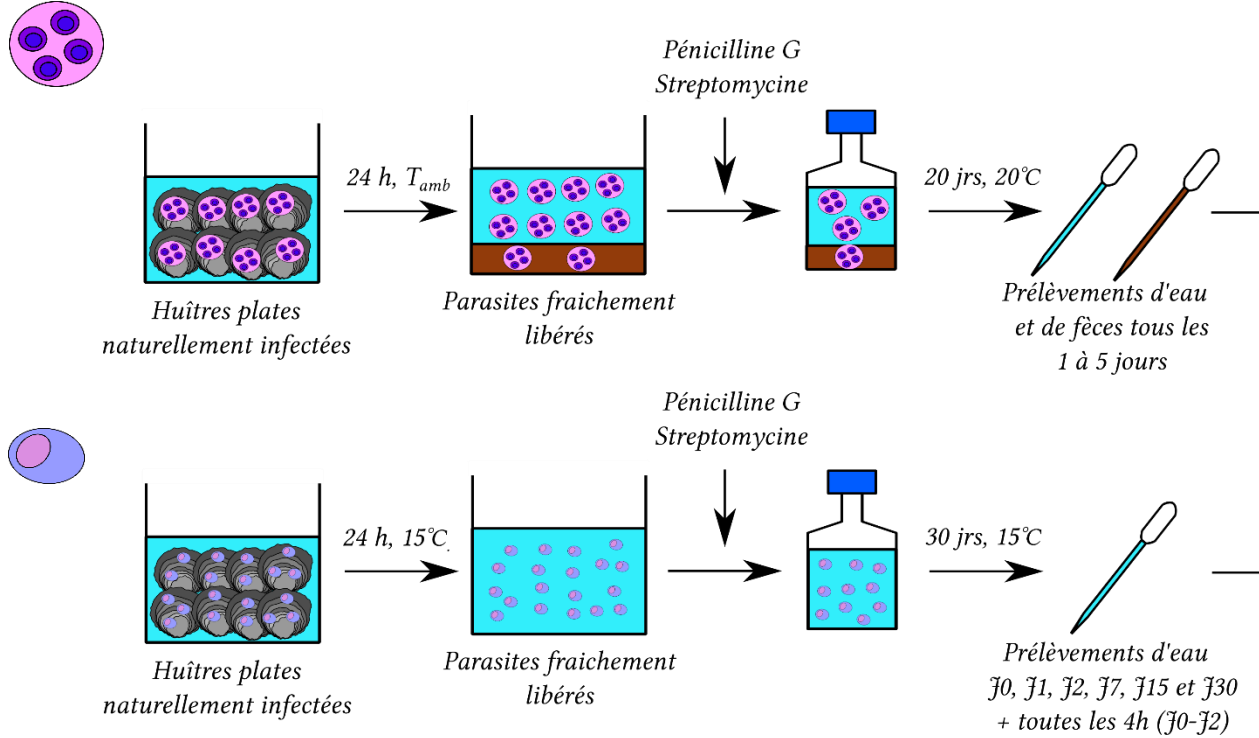
- Utilisation approches moléculaires Axe 1 + microscopie (*M. refringens*)



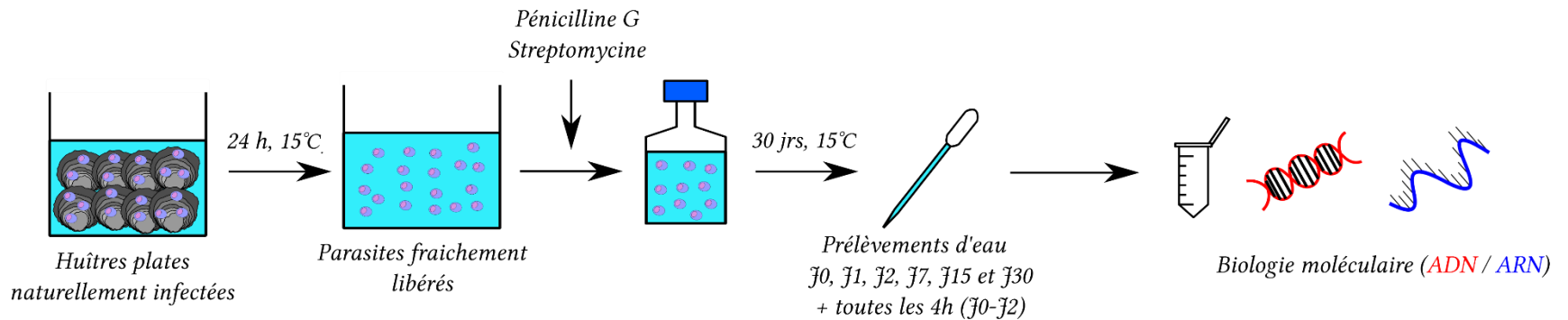
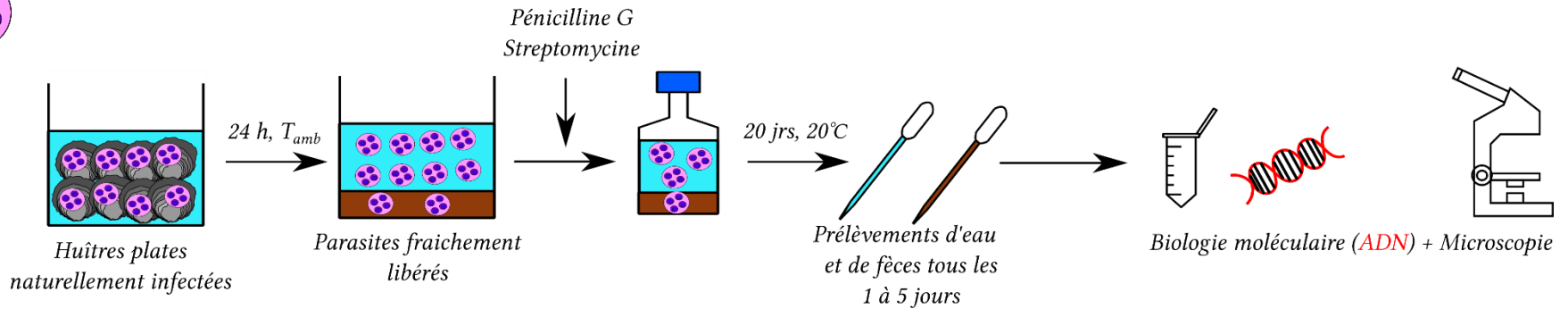
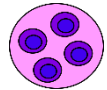
Matériel et méthodes



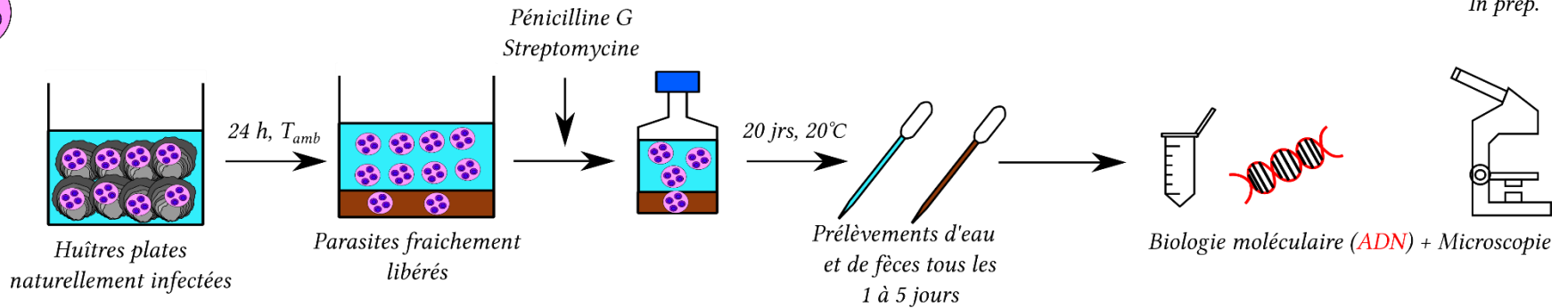
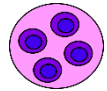
Matériel et méthodes



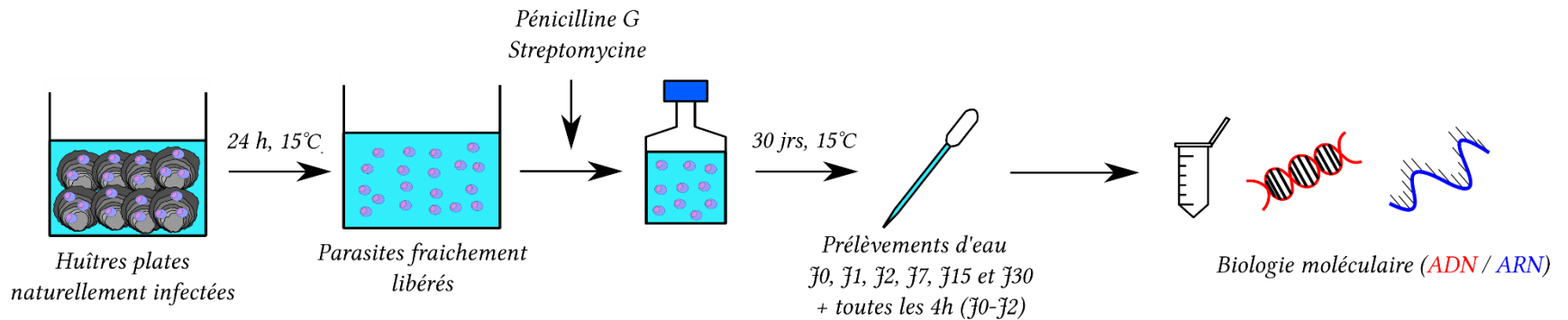
Matériel et méthodes



Matériel et méthodes



* Mérou et al.
In prep.



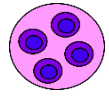
microbial biotechnology 

Research Article |  Open Access |     

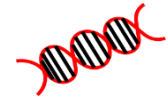
An eDNA/eRNA-based approach to investigate the life cycle of non-cultivable shellfish micro-parasites: the case of *Bonamia ostreae*, a parasite of the European flat oyster *Ostrea edulis*

Nicolas Mérou, Cyrielle Lecadet, Stéphane Pouvreau, Isabelle Arzul

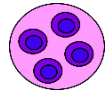
First published: 01 July 2020 | <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13617>



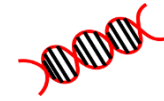
Résultats – Survie *M. refringens* *



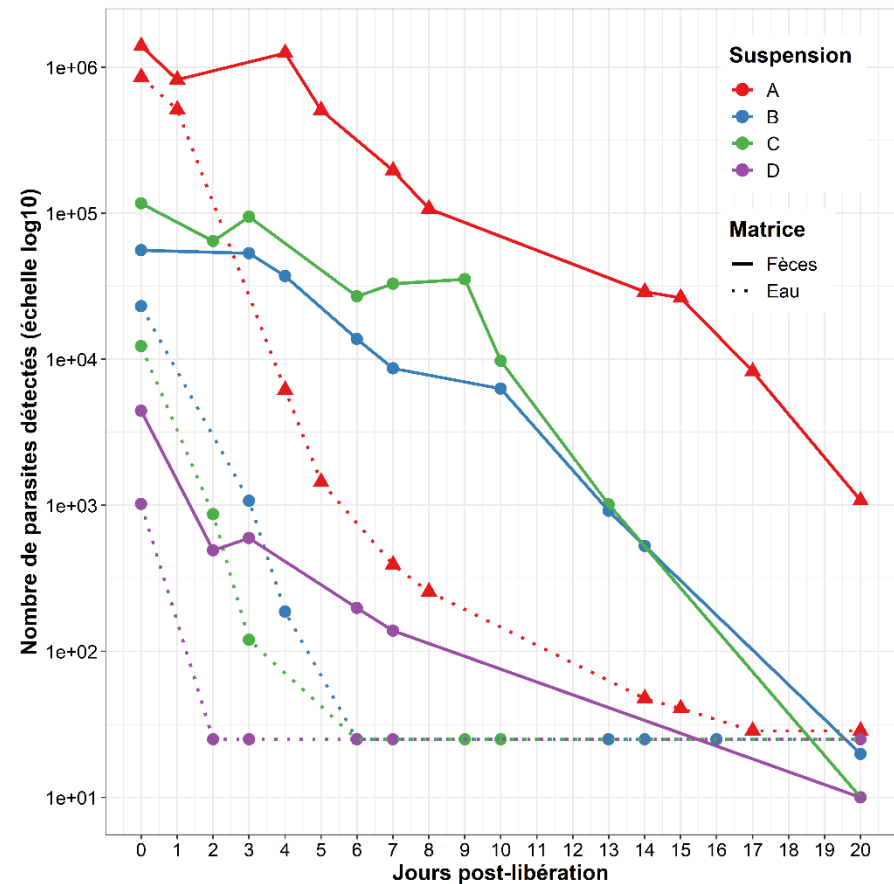
- Gamme standard (Axe 1) dans chaque essai de PCR en temps réel :
Quantification des parasites



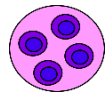
Résultats – Survie *M. refringens* *



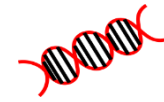
- Gamme standard (Axe 1) dans chaque essai de PCR en temps réel :
Quantification des parasites



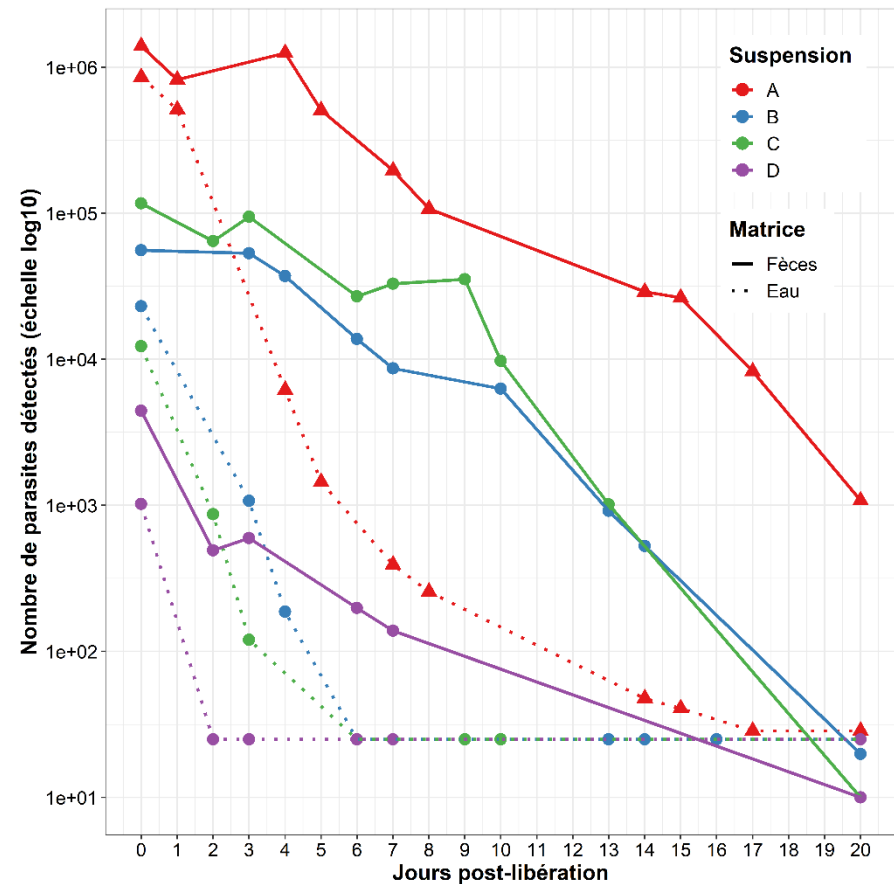
* Mérou et al. « Out of the flat oyster *Ostrea edulis* : what happens to the parasite *Marteilia refringens* ». In prep.



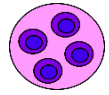
Résultats – Survie *M. refringens* *



- Gamme standard (Axe 1) dans chaque essai de PCR en temps réel :
Quantification des parasites
- Détection d'ADN de parasite jusqu'à 20 jours après libération



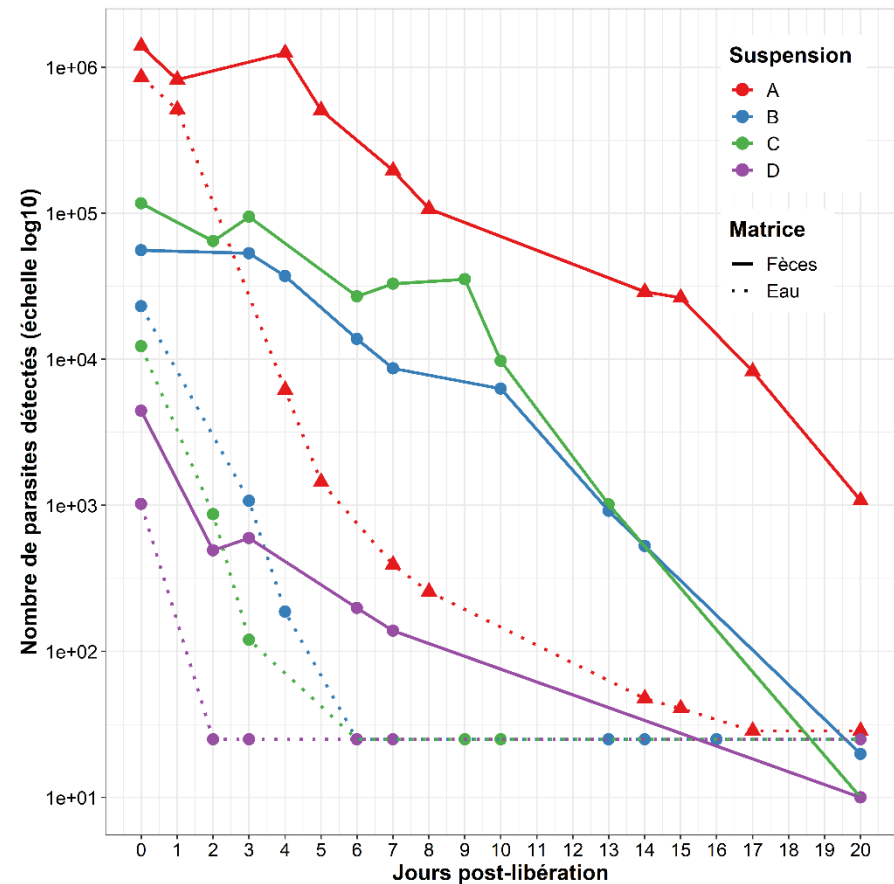
* Mérou et al. « Out of the flat oyster *Ostrea edulis* : what happens to the parasite *Marteilia refringens* ». In prep.



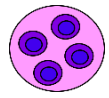
Résultats – Survie *M. refringens* *



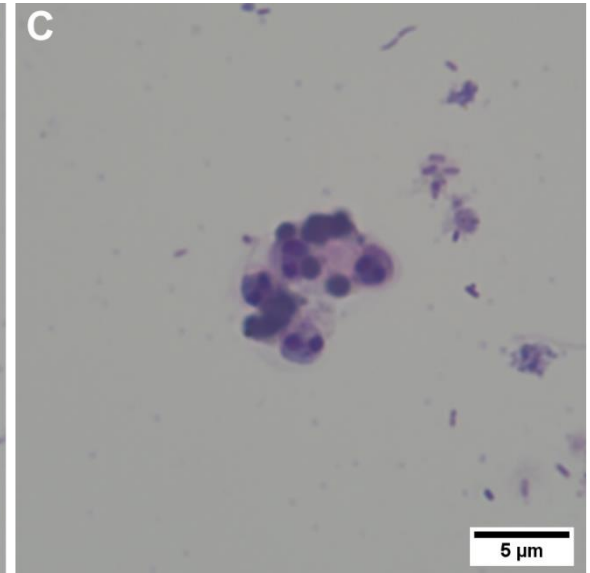
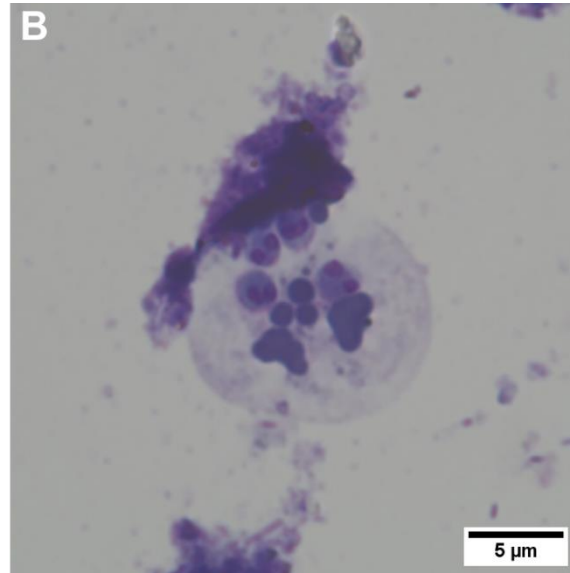
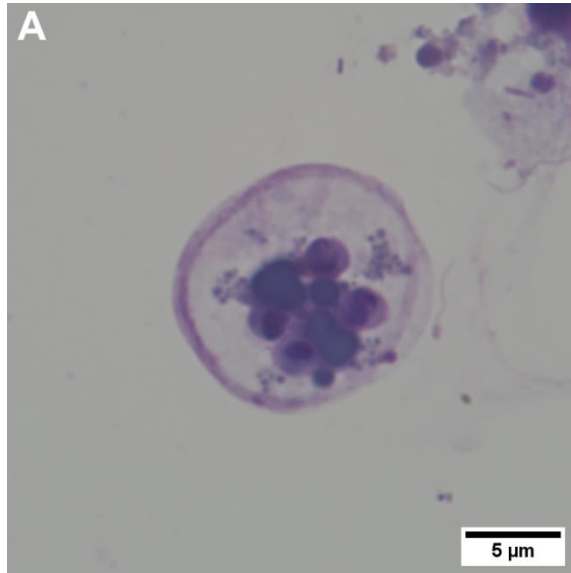
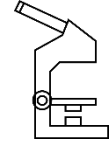
- Gamme standard (Axe 1) dans chaque essai de PCR en temps réel :
Quantification des parasites
- Détection d'ADN de parasite jusqu'à 20 jours après libération
- Survie meilleure dans les fèces
 - Nombre de parasites toujours plus important
 - Pente plus faible ($-0,16 \pm 0,03$) que dans l'eau ($-0,55 \pm 0,25$)

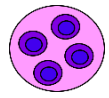


* Mérou et al. « Out of the flat oyster *Ostrea edulis* : what happens to the parasite *Marteilia refringens* ». In prep.

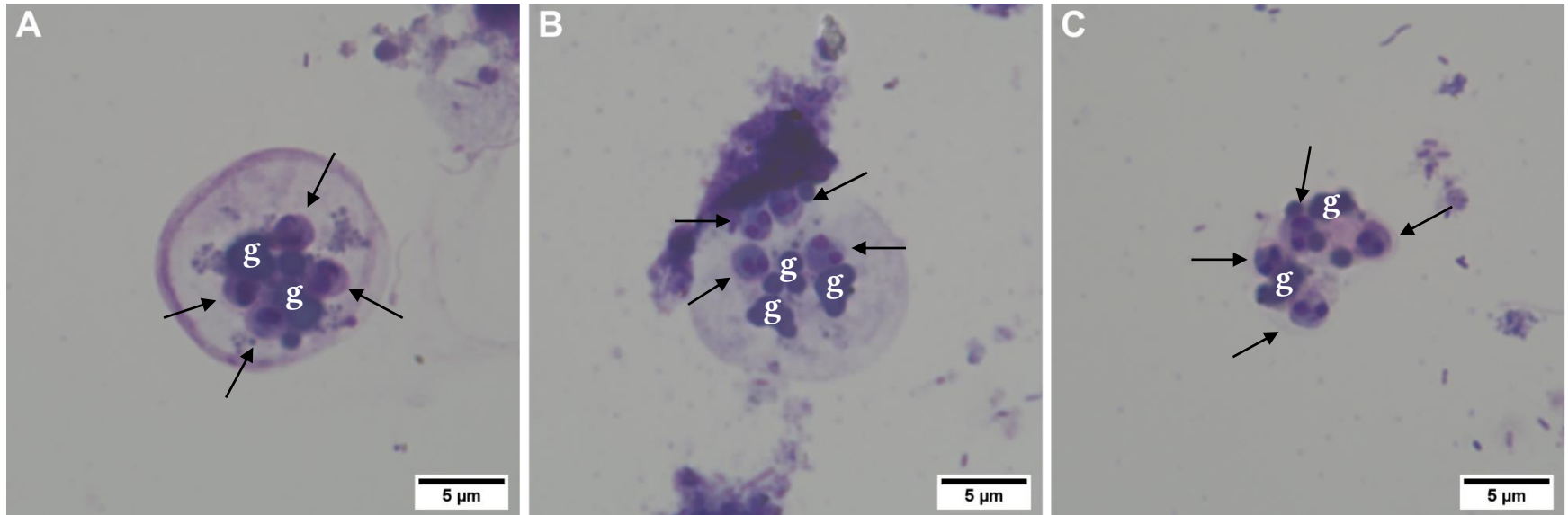
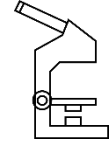


Résultats – Survie *M. refringens* *



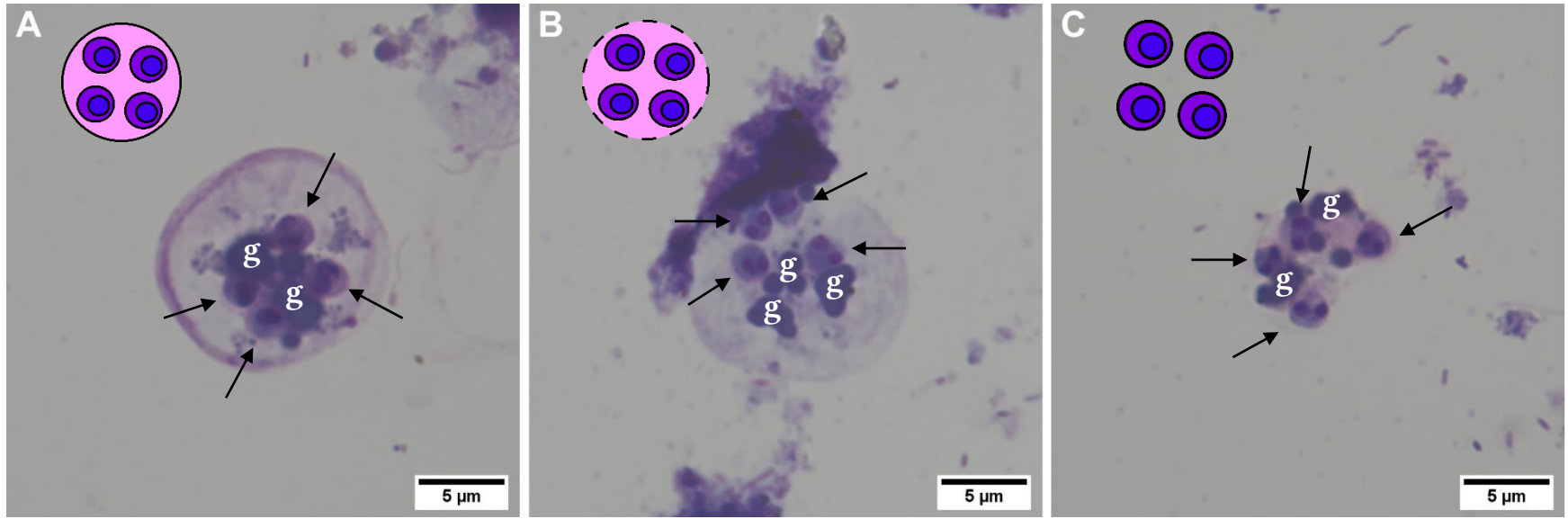
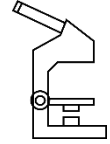


Résultats – Survie *M. refringens* *



- Observation *M. refringens* avec spores (→) et granules réfringents (g)

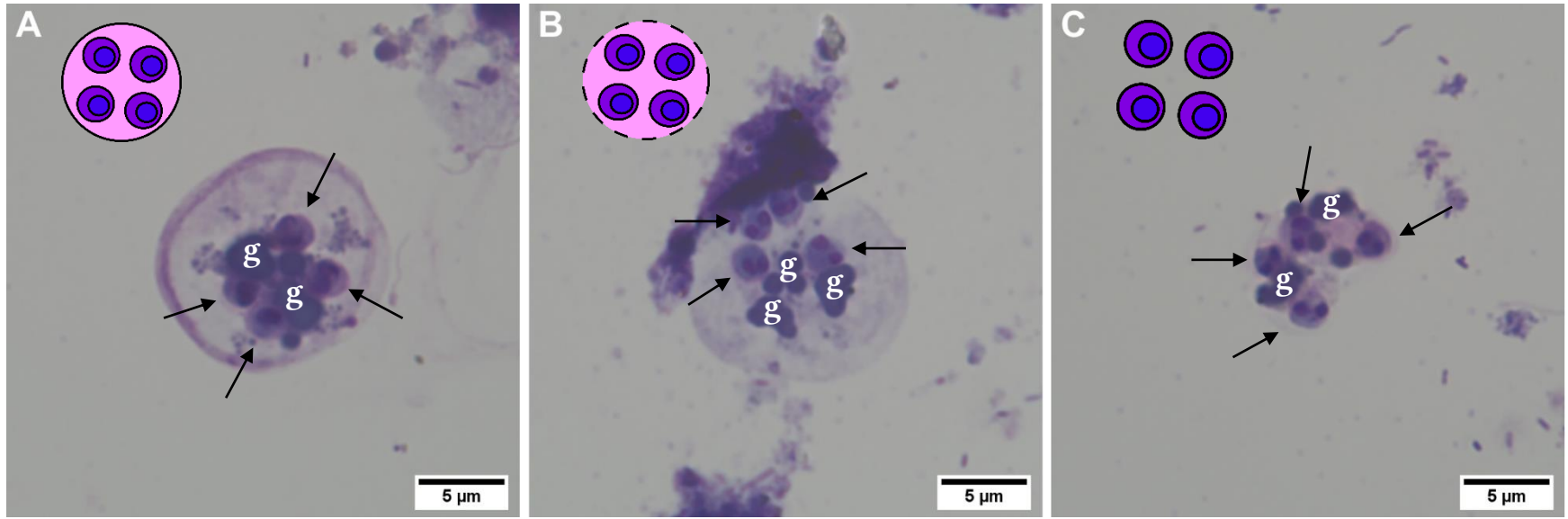
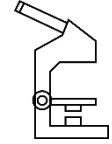
Résultats – Survie *M. refringens* *



- Observation *M. refringens* avec spores (→) et granules réfringents (g)
- Distinction de 3 « stades »

* Mérou et al. « Out of the flat oyster *Ostrea edulis* : what happens to the parasite *Marteilia refringens* ». In prep.

Résultats – Survie *M. refringens* *



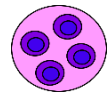
Entre J0 et J1

Entre J0 et J1

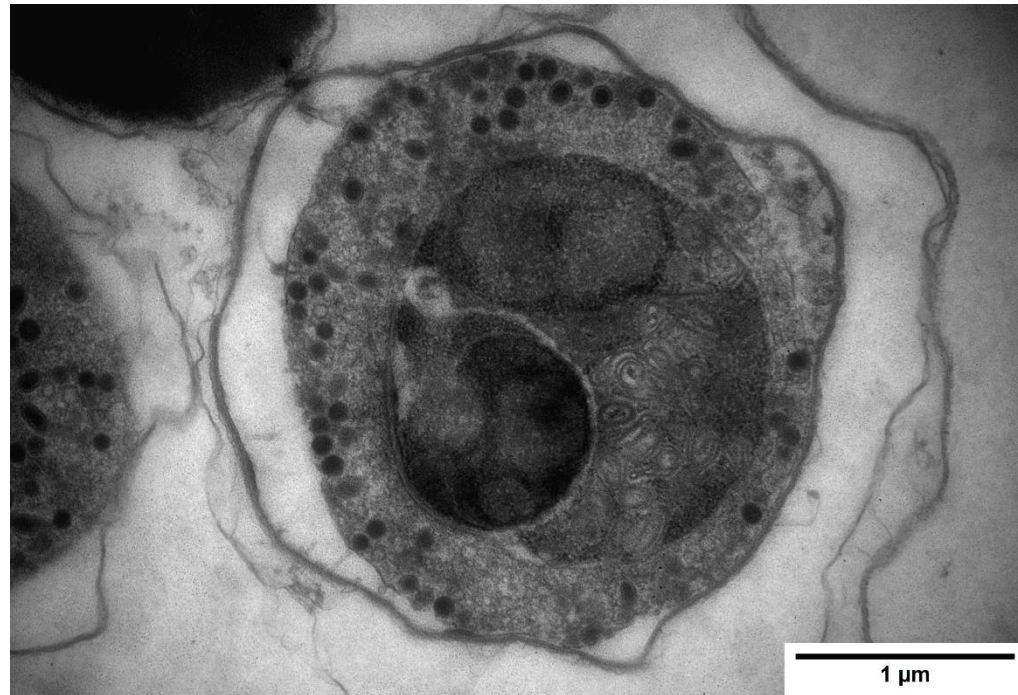
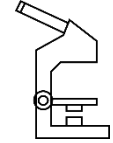
Après J1

- Observation *M. refringens* avec spores (→) et granules réfringents (g)
- Distinction de 3 « stades »
- Évolution des stades dans le temps : disparition de la membrane ?

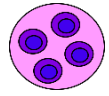
* Mérou et al. « Out of the flat oyster *Ostrea edulis* : what happens to the parasite *Marteilia refringens* ». In prep.



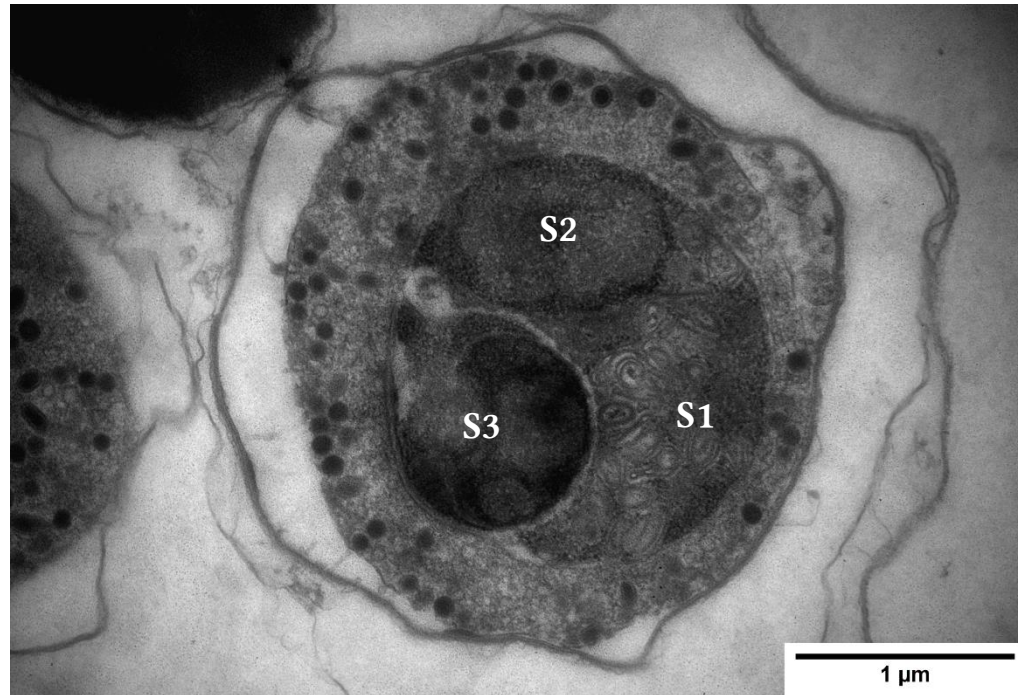
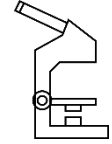
Résultats – Survie *M. refringens* *



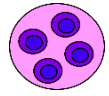
* Mérou et al. « Out of the flat oyster *Ostrea edulis* : what happens to the parasite *Marteilia refringens* ». *In prep.*



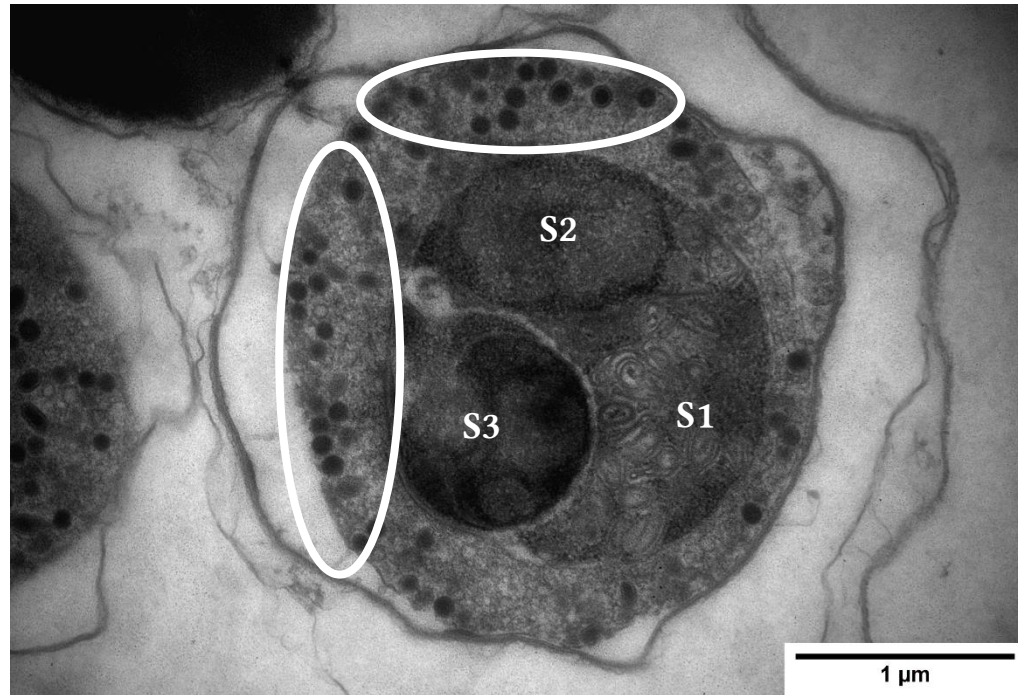
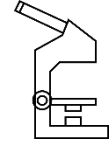
Résultats – Survie *M. refringens* *



- 3 niveaux d'imbrication : $S1 > S2 > S3$



Résultats – Survie *M. refringens* *

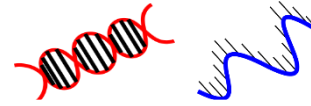


- 3 niveaux d'imbrication : $S1 > S2 > S3$
- Haplosporosomes : libération sous forme mature (*Grizel et al., 1974 ; Perkins, 1976*)

* Mérou et al. « Out of the flat oyster *Ostrea edulis* : what happens to the parasite *Marteilia refringens* ». *In prep.*



Résultats – Survie *B. ostreae*

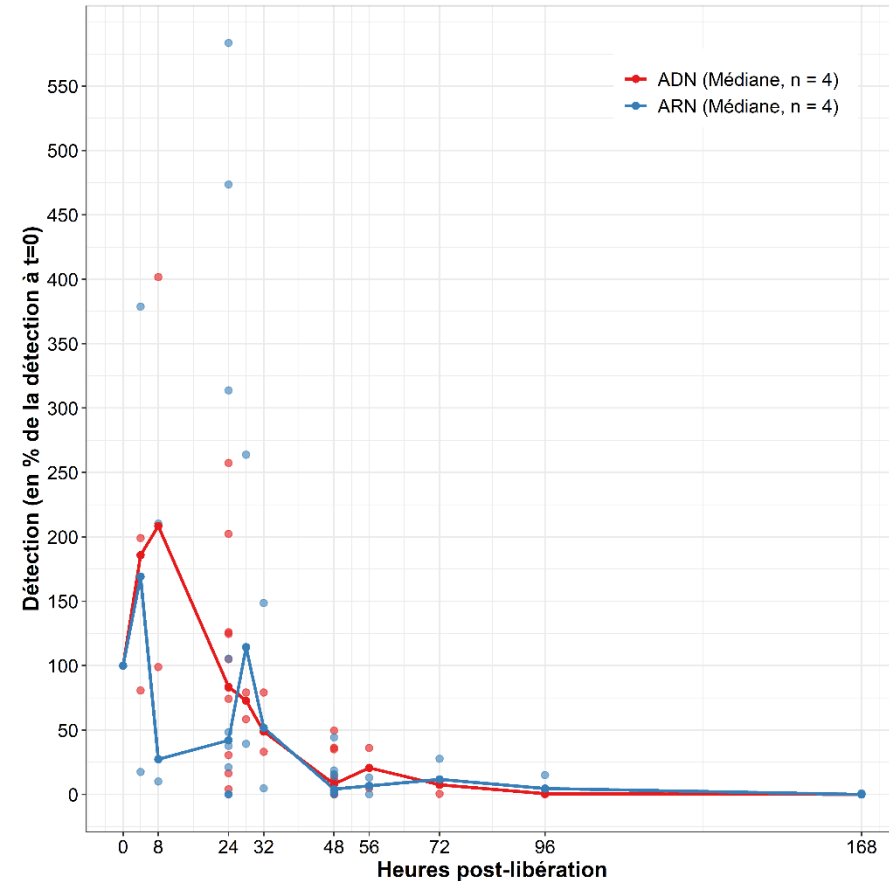
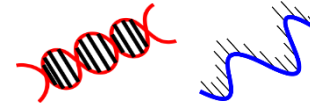


- Gamme standard (Axe 1) dans chaque essai de PCR en temps réel :
Quantification des parasites



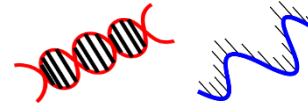
Résultats – Survie *B. ostreae*

- Gamme standard (Axe 1) dans chaque essai de PCR en temps réel :
Quantification des parasites





Résultats – Survie *B. ostreae*



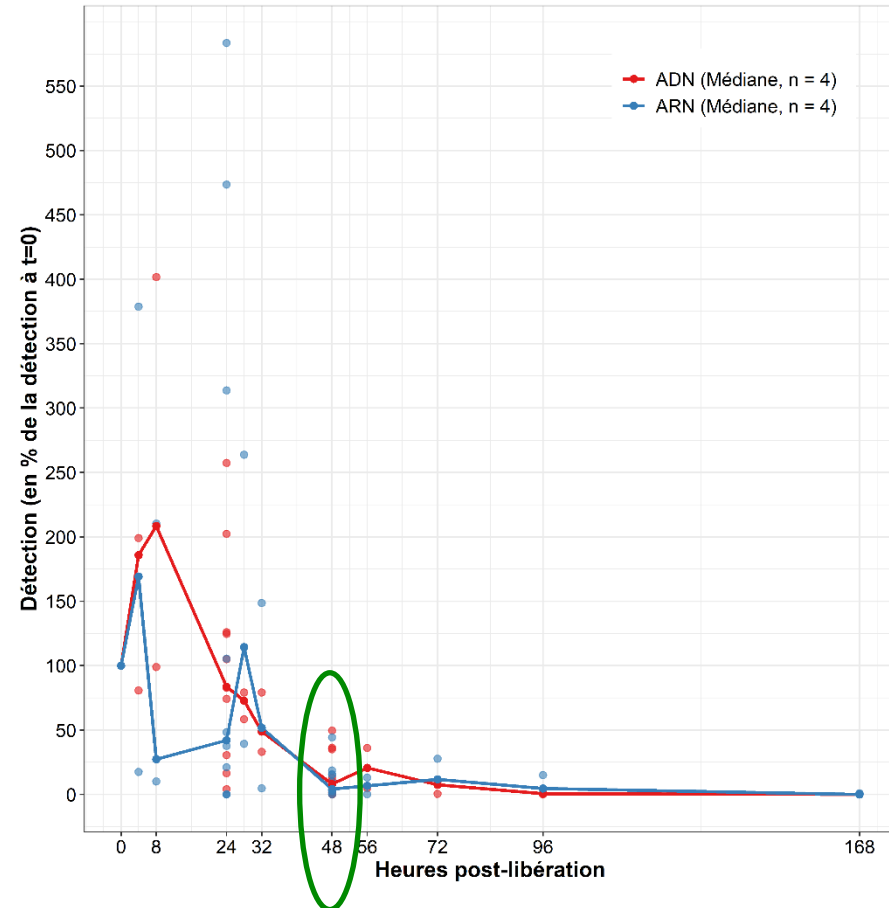
- Gamme standard (Axe 1) dans chaque essai de PCR en temps réel :
Quantification des parasites
- 48 heures post-libération
 - - 90 % parasites t_0 (ADN et ARN)

Research Article | Open Access | © | 1

An eDNA/eRNA-based approach to investigate the life cycle of non-cultivable shellfish micro-parasites: the case of *Bonamia ostreae*, a parasite of the European flat oyster *Ostrea edulis*

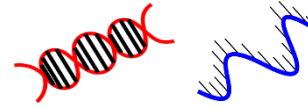
Nicolas Mérou, Cyrielle Lecadet, Stéphane Pouvreau, Isabelle Arzul

First published: 01 July 2020 | <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13617>





Résultats – Survie *B. ostreae*



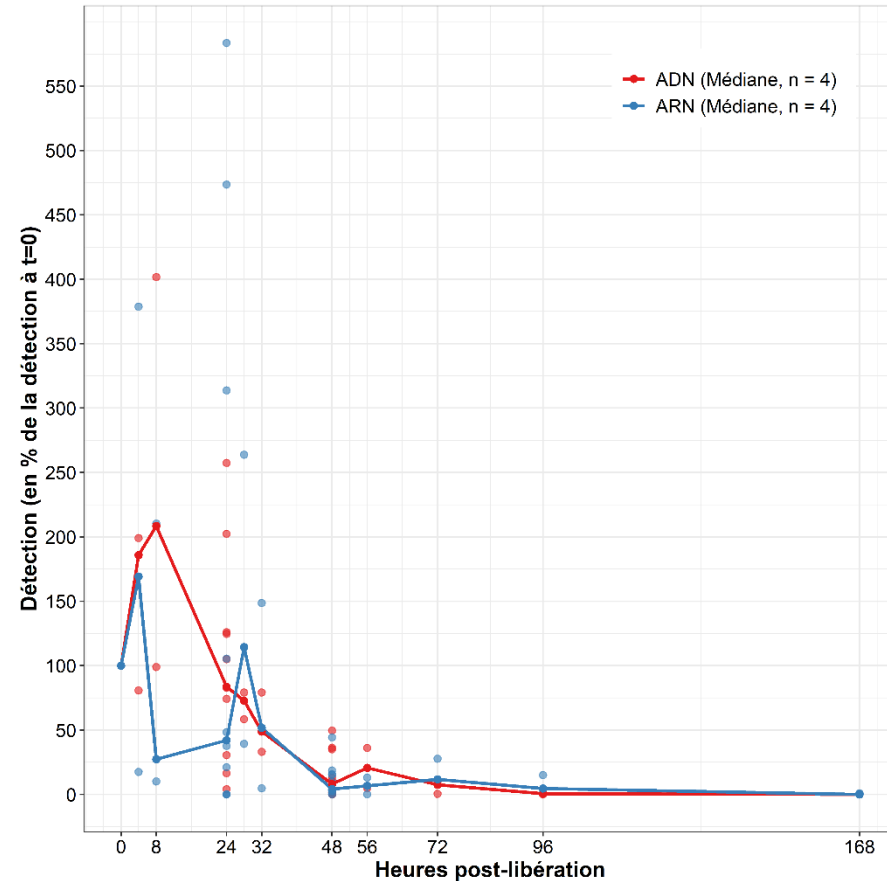
- Gamme standard (Axe 1) dans chaque essai de PCR en temps réel :
Quantification des parasites
- 48 heures post-libération
 - - 90 % parasites t_0 (ADN et ARN)
- 7 jours post-libération
 - Plus d'ADN
- 30 jours post-libération
 - Traces d'ARN (- de 1 % signal t_0)

Research Article | Open Access | © | 1

An eDNA/eRNA-based approach to investigate the life cycle of non-cultivable shellfish micro-parasites: the case of *Bonamia ostreae*, a parasite of the European flat oyster *Ostrea edulis*

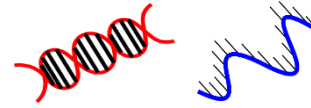
Nicolas Mérou, Cyrielle Lecadet, Stéphane Pouvreau, Isabelle Arzul

First published: 01 July 2020 | <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13617>





Résultats – Survie *B. ostreae*



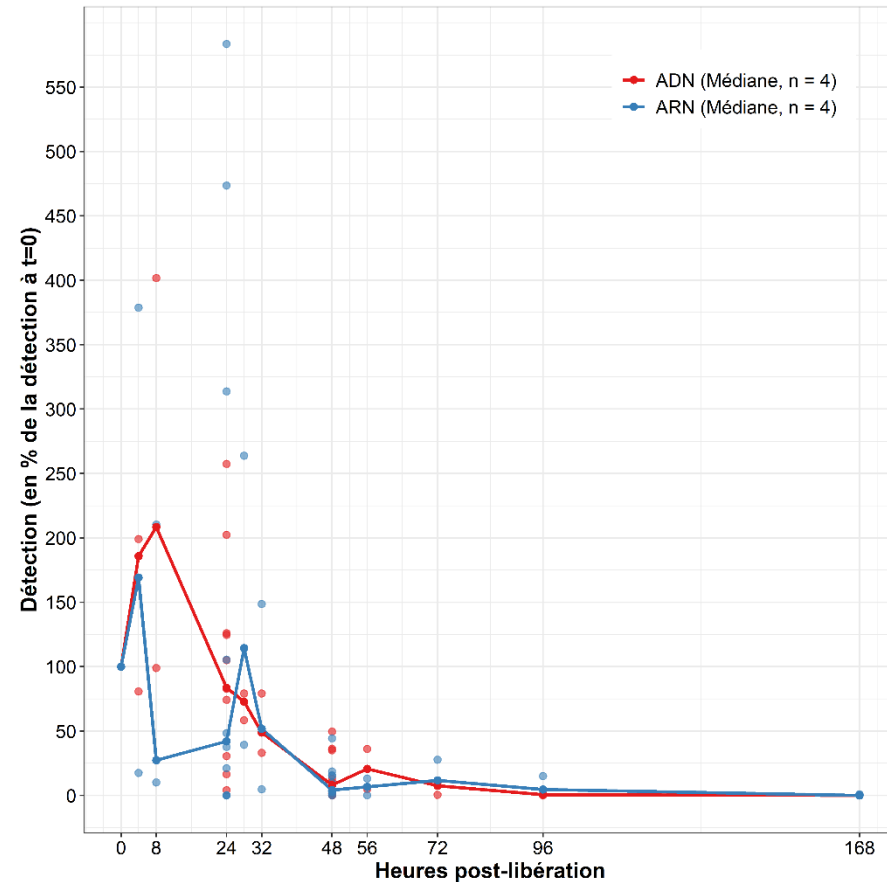
- Gamme standard (Axe 1) dans chaque essai de PCR en temps réel :
Quantification des parasites
- 48 heures post-libération
 - - 90 % parasites t_0 (ADN et ARN)
- 7 jours post-libération
 - Plus d'ADN
- 30 jours post-libération
 - Traces d'ARN (- de 1 % signal t_0)
- Détection d'ARN : caractérisation
 - Cellules actives VS cellules inactives ?

Research Article | Open Access | © | 1

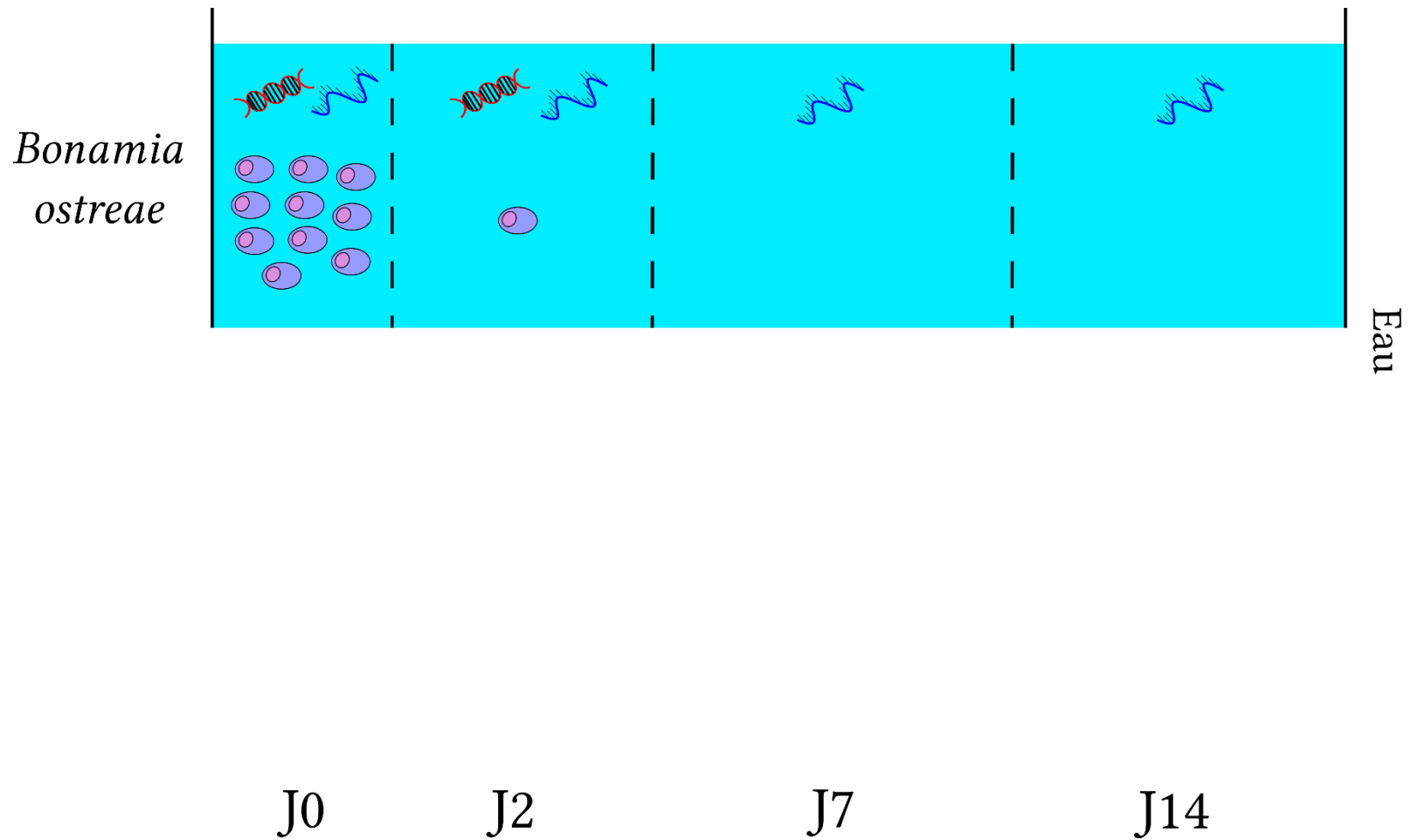
An eDNA/eRNA-based approach to investigate the life cycle of non-cultivable shellfish micro-parasites: the case of *Bonamia ostreae*, a parasite of the European flat oyster *Ostrea edulis*

Nicolas Mèrou, Cyrielle Lecadet, Stéphane Pouvreau, Isabelle Arzul

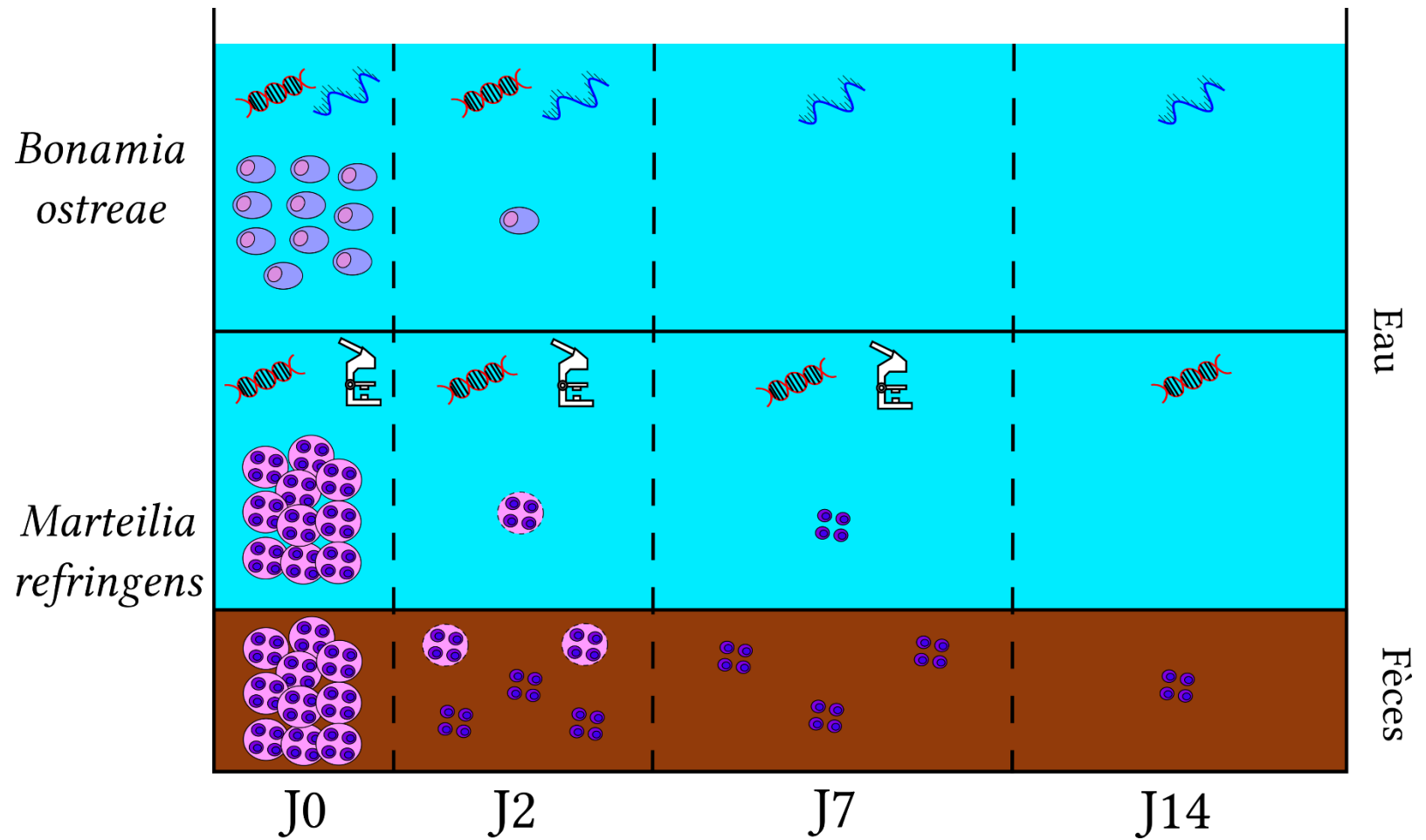
First published: 01 July 2020 | <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13617>



Conclusion



Conclusion

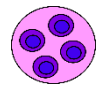


Axe 3

-

Étudier *in situ* la distribution
environnementale et la dynamique
temporelle de *M. refringens* et *B. ostreae*

Introduction



▪ *M. refringens*


- Cycle hétéroxène
- Transmission probablement indirecte (*P. grani* / *latisetosa*)
- Large spectre d'hôtes




▪ *B. ostreae*

- Cycle monoxène
- Transmission directe + autres voies (larves, macroinvertébrés benthiques)
- Spectre d'hôtes restreint

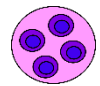
Introduction

-  *M. refringens*
 - Cycle hétéroxène
 - Transmission probablement indirecte (*P. grani* / *latisetosa*)
 - Large spectre d'hôtes

-  *B. ostreae*
 - Cycle monoxène
 - Transmission directe + autres voies (larves, macroinvertébrés benthiques)
 - Spectre d'hôtes restreint

- Beaucoup de questions subsistent ...

Introduction



▪ *M. refringens*

- Cycle hétéroxène
- Transmission probablement indirecte (*P. grani* / *latisetosa*)
- Large spectre d'hôtes



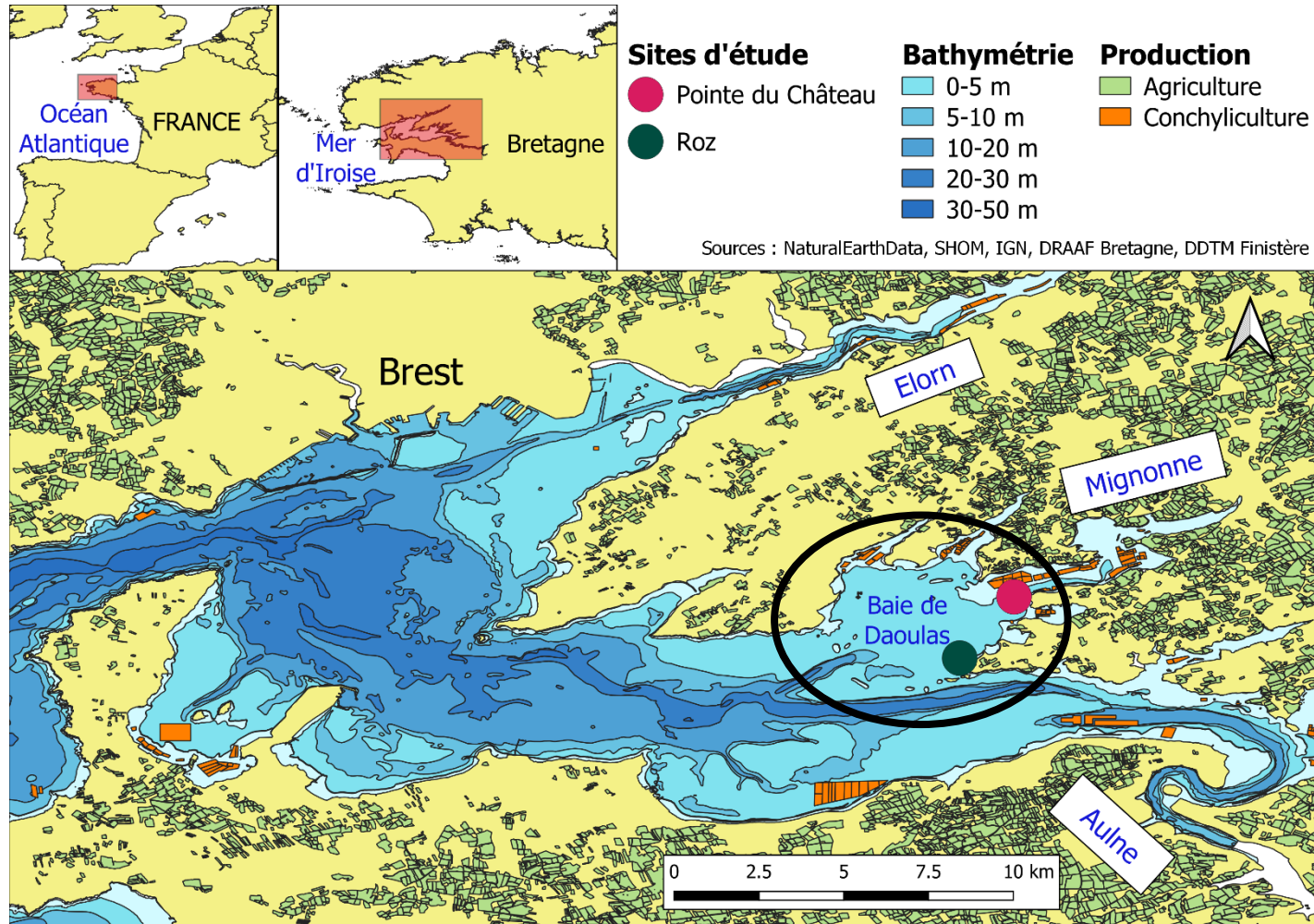
▪ *B. ostreae*

- Cycle monoxène
- Transmission directe + autres voies (larves, macroinvertébrés benthiques)
- Spectre d'hôtes restreint

▪ Beaucoup de questions subsistent ...

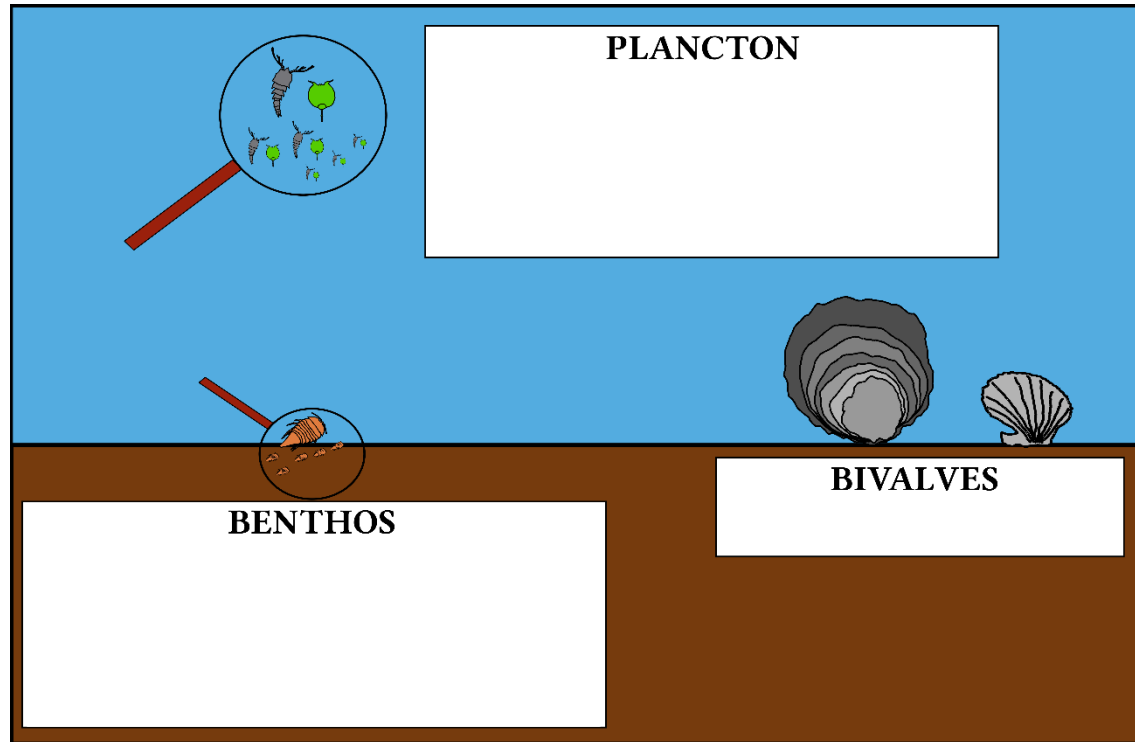
▪ **Objectif : Compléter les cycles parasites de *M. refringens* et *B. ostreae* (distribution environnementale et dynamique temporelle)**

Matériel et méthodes *



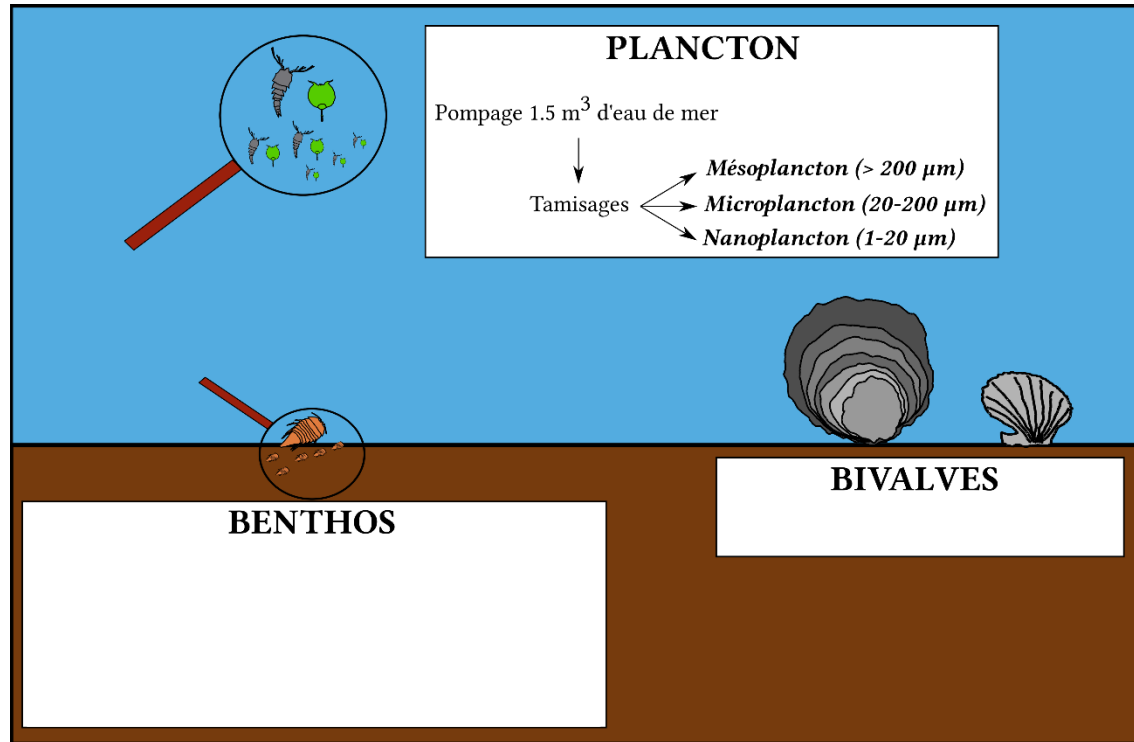
* Mérou et al. « Investigation of the environmental distribution and temporal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the flat oyster *Ostrea edulis* ». *In prep.*

Matériel et méthodes *



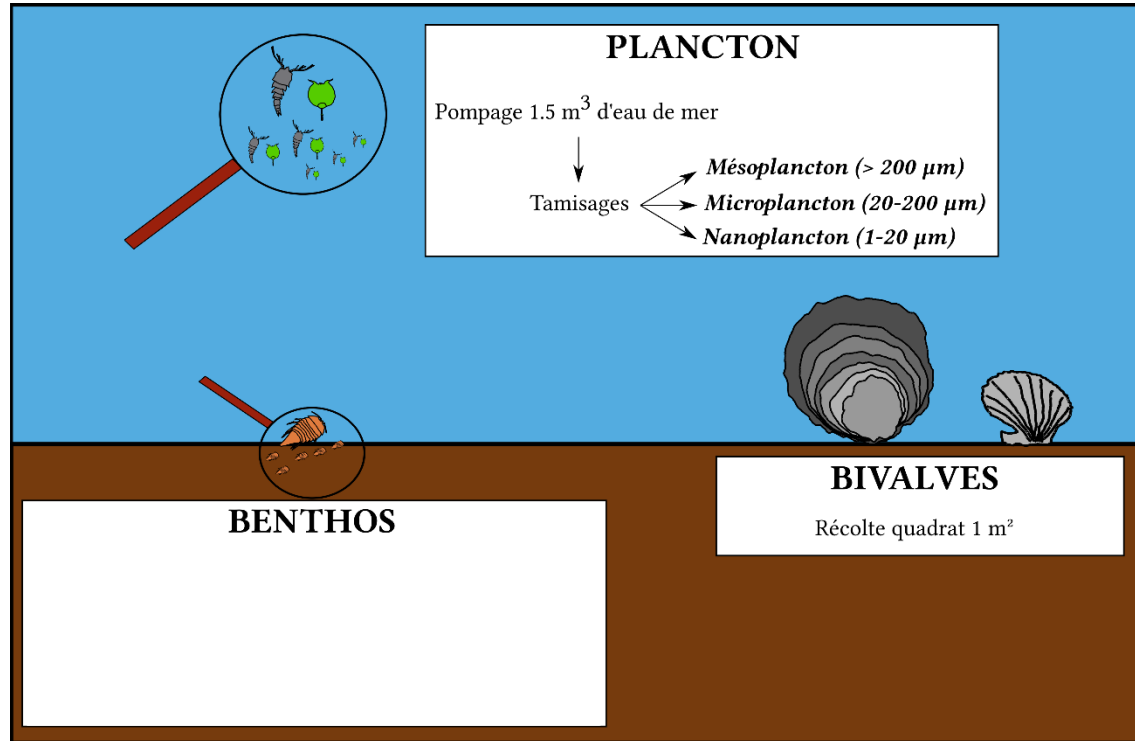
* Mérou et al. « Investigation of the environmental distribution and temporal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the flat oyster *Ostrea edulis* ». *In prep.*

Matériel et méthodes *



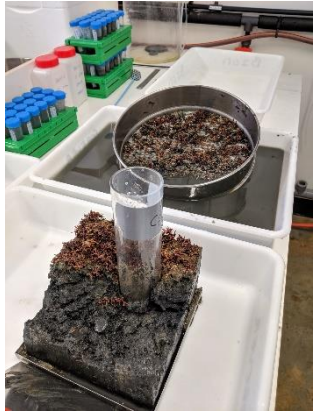
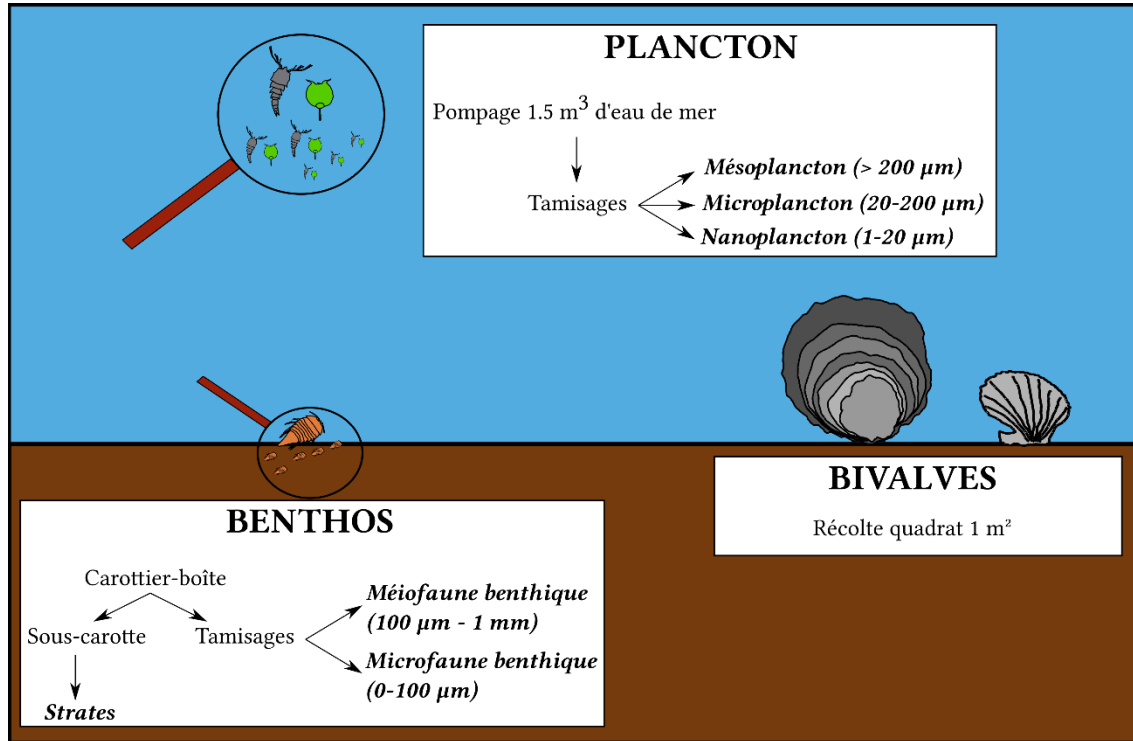
* Mérou et al. « Investigation of the environmental distribution and temporal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the flat oyster *Ostrea edulis* ». *In prep.*

Matériel et méthodes *



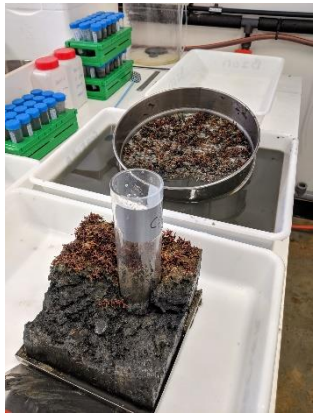
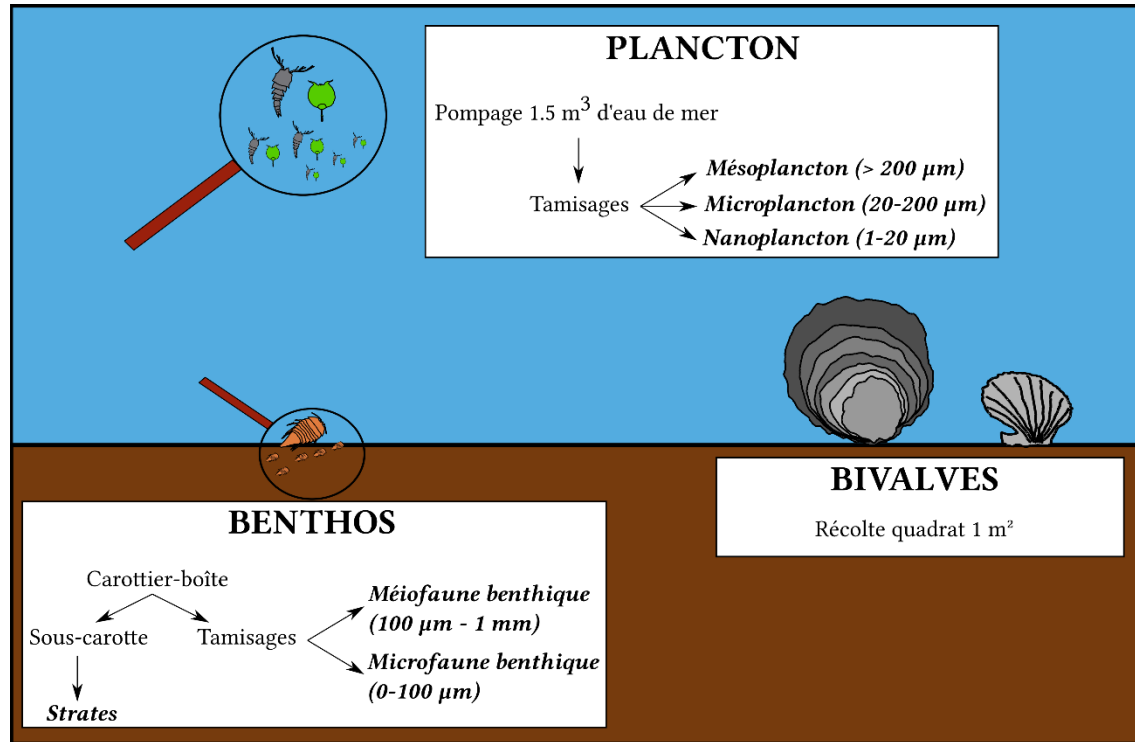
* Mérou et al. « Investigation of the environmental distribution and temporal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the flat oyster *Ostrea edulis* ». *In prep.*


Matériel et méthodes *



* Mérou et al. « Investigation of the environmental distribution and temporal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the flat oyster *Ostrea edulis* ». *In prep.*

Matériel et méthodes *

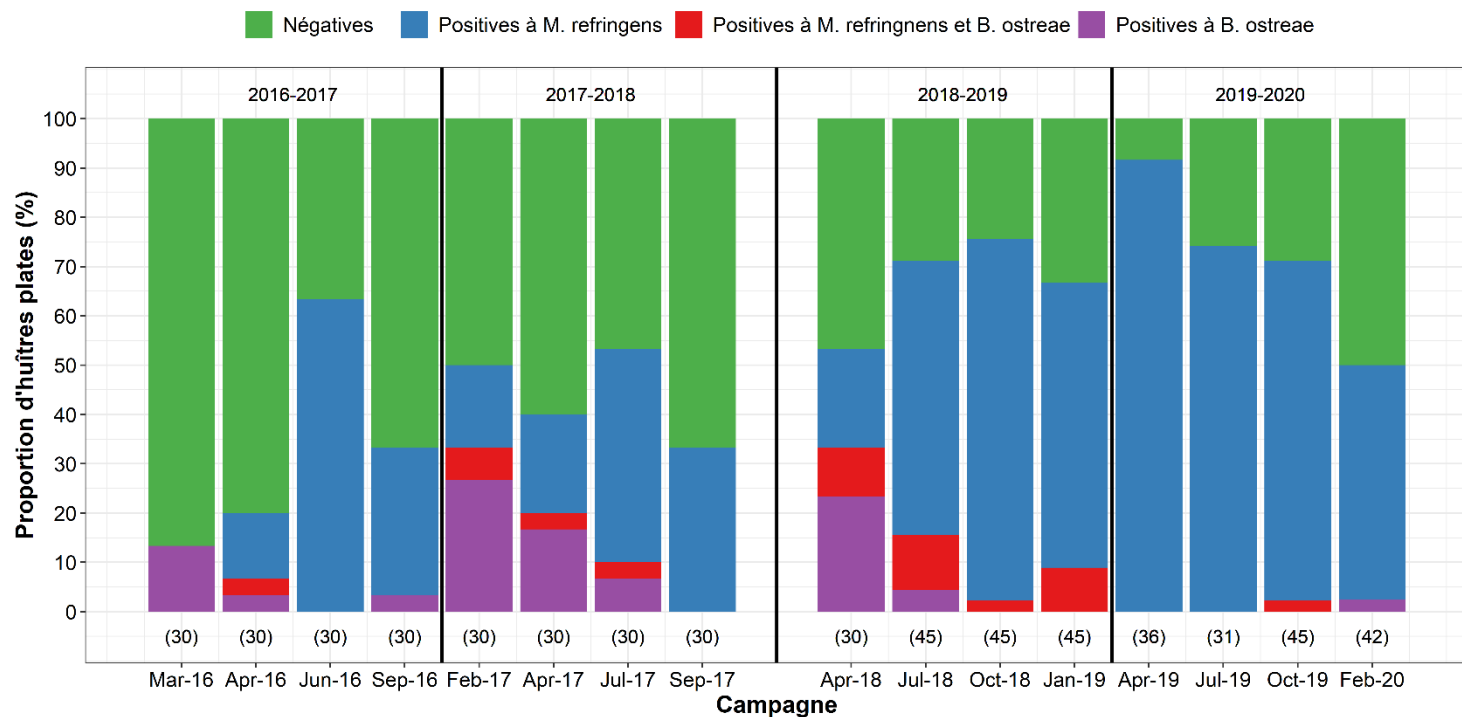


- Prélèvements saisonniers : avril 2018 – février 2020
- Échantillonnage → Extraction d'ADN → PCR en temps réel 

* Mérou et al. « Investigation of the environmental distribution and temporal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the flat oyster *Ostrea edulis* ». *In prep.*

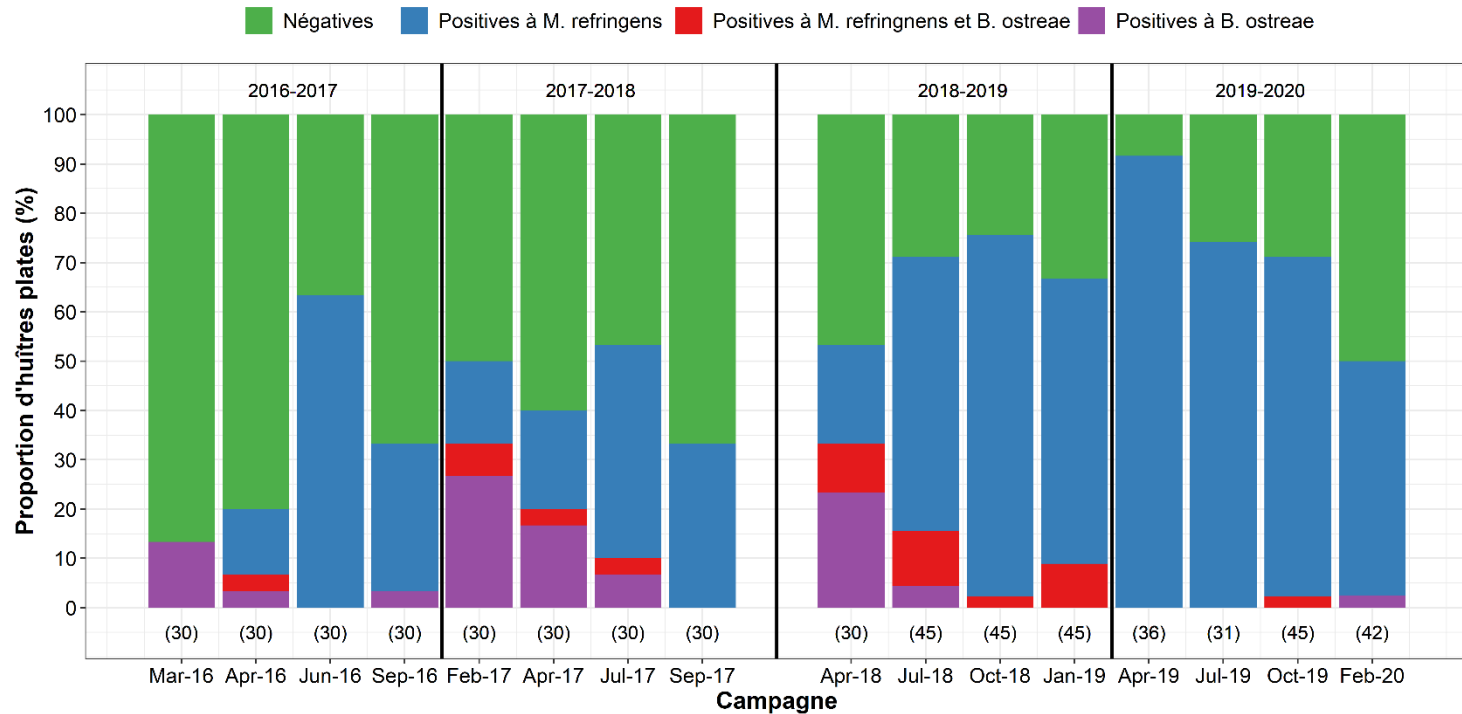


Résultats – Huîtres plates





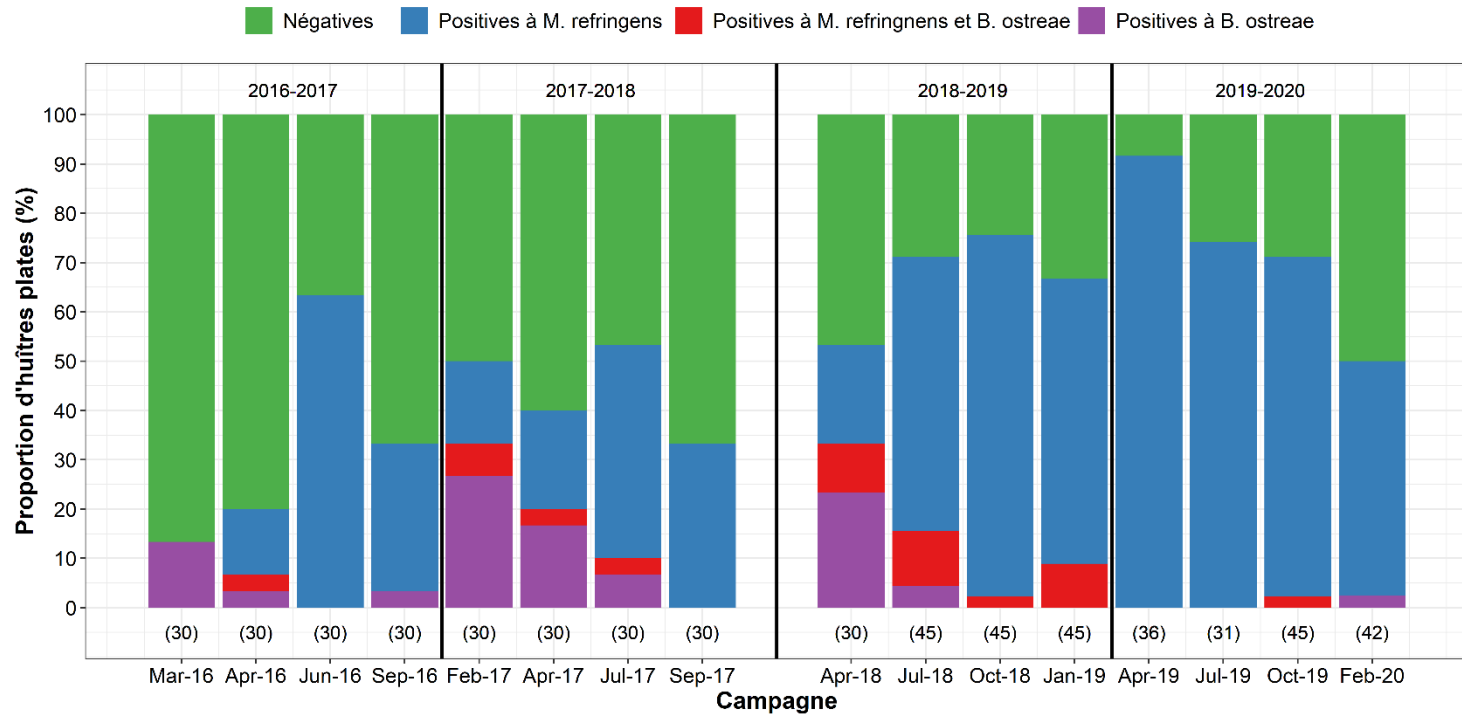
Résultats – Huîtres plates



- Fréquence de détection de *M. refringens* > *B. ostreae*



Résultats – Huîtres plates



- Fréquence de détection de *M. refringens* > *B. ostreae*
- Généralement : pic prévalence *M. refringens* été // pic prévalence *B. ostreae* hiver




Résultats – Huîtres plates


Influence environnement ~ fréquence de détection



Résultats – Huîtres plates

Influence environnement ~ fréquence de détection

- *Marteilia refringens* : 
 - Fréquence de détection été

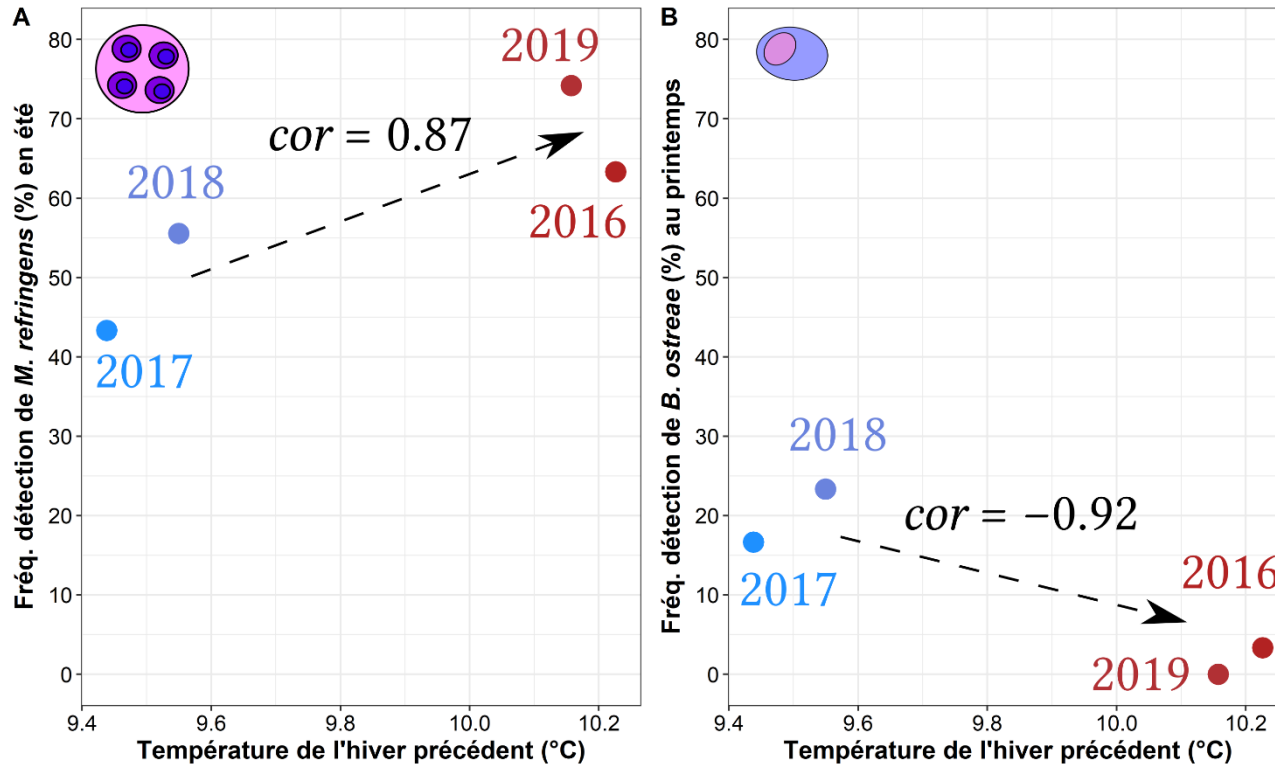
 - *Bonamia ostreae* : 
 - Fréquence de détection printemps

 - **Température**
 - Salinité
 - Chlorophylle-a
- } Moyenne des
saisons
précédentes

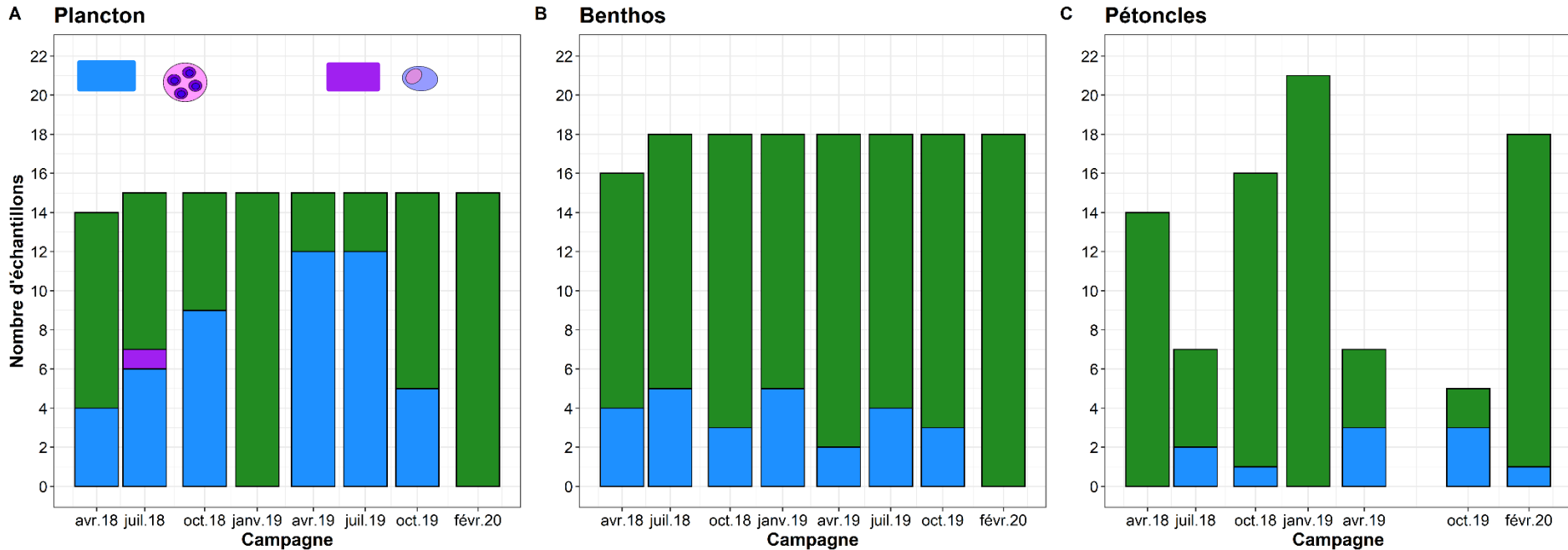


Résultats – Huîtres plates

Influence environnement ~ fréquence de détection

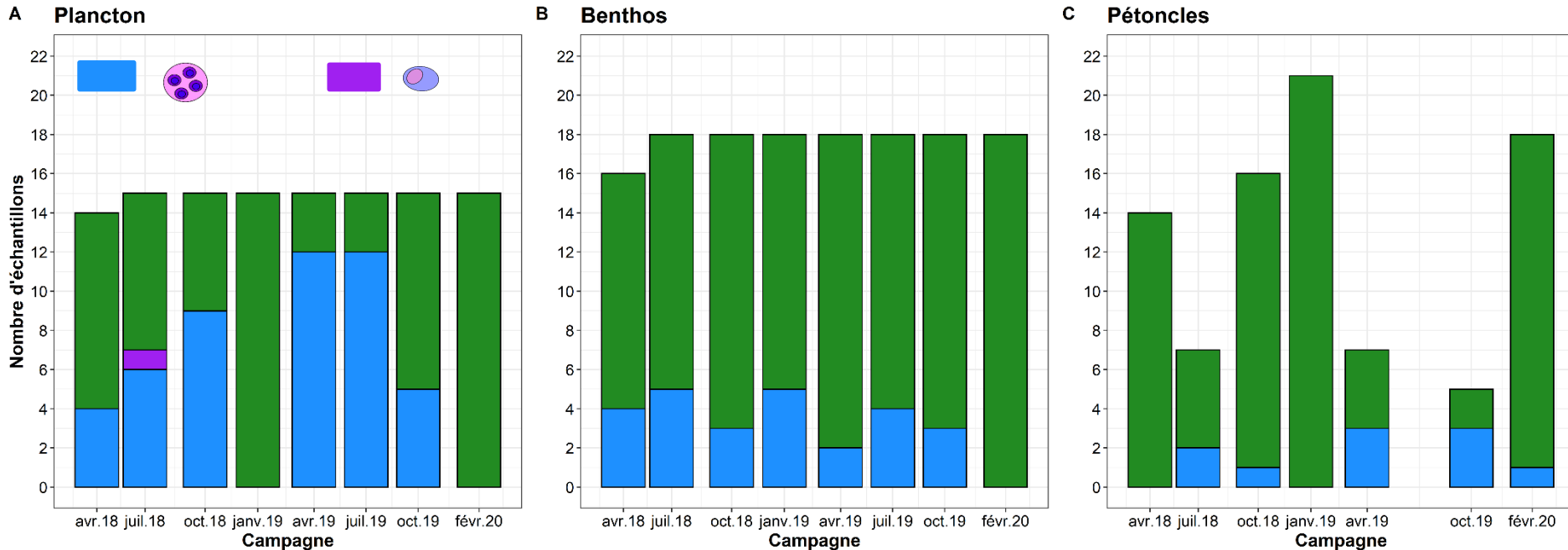


Résultats – Distribution environnementale *



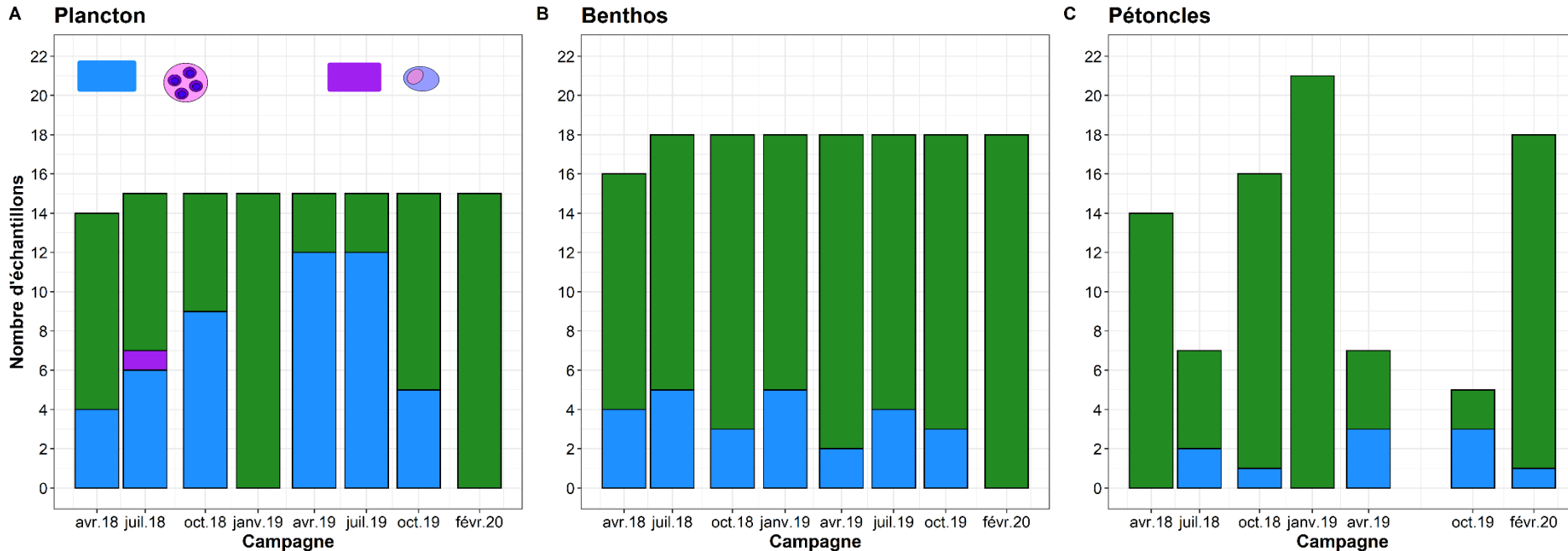
* Mérou et al. « Investigation of the environmental distribution and temporal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the flat oyster *Ostrea edulis* ». *In prep.*

Résultats – Distribution environnementale *



- *B. ostreae* : strictement associé aux huîtres plates

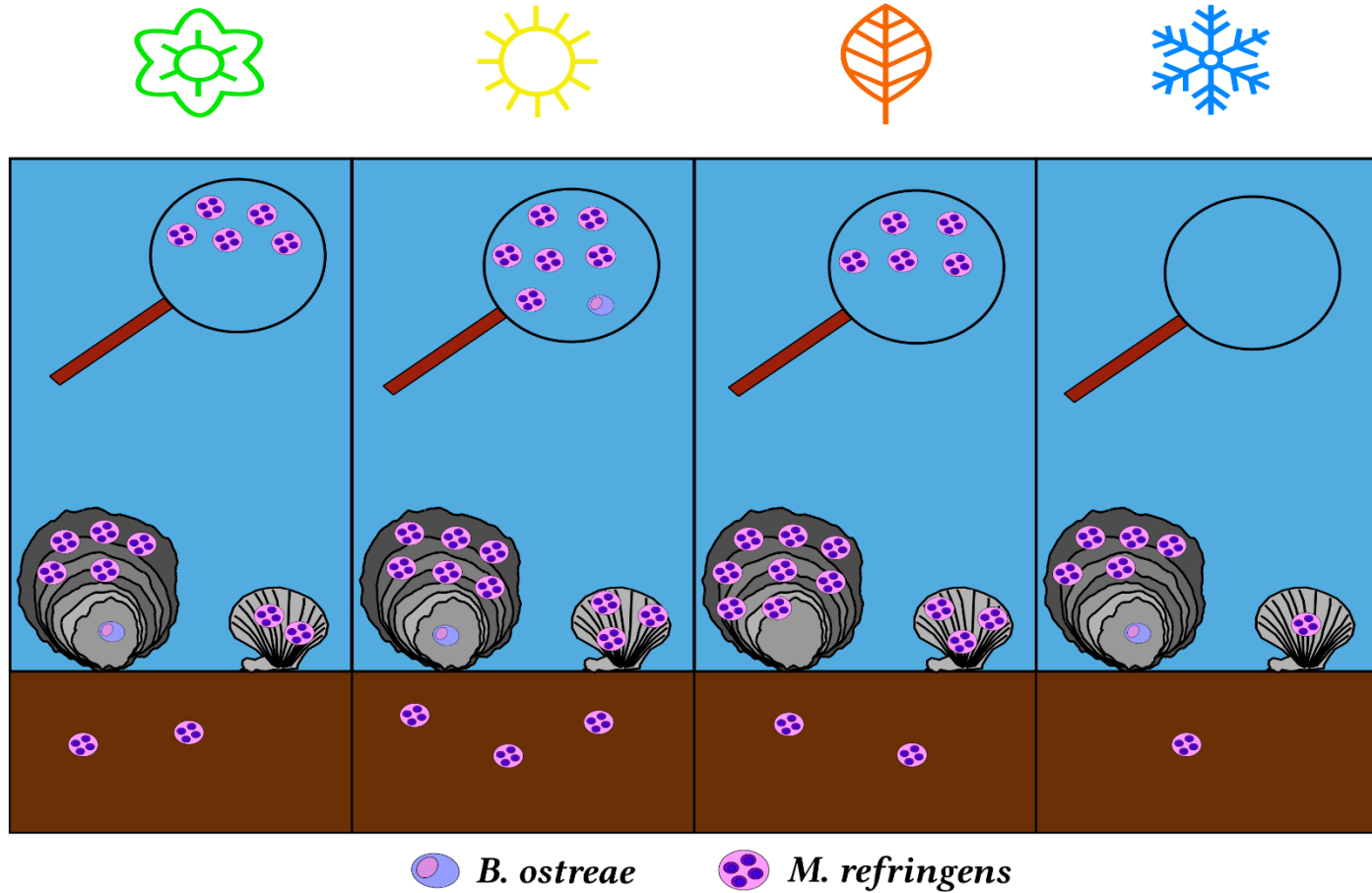
Résultats – Distribution environnementale *





- *B. ostreae* : strictement associé aux huîtres plates
- *M. refringens* : largement répandu dans l'environnement
 - Rôle clés du sédiment et plancton dans le cycle de *M. refringens*
 - *Chlamys varia* comme hôte réservoir ?

* Mérou et al. « Investigation of the environmental distribution and temporal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the flat oyster *Ostrea edulis* ». *In prep.*



Conclusion



Conclusion générale

	<i>Marteilia refringens</i> 	<i>Bonamia ostreae</i> 
Tropisme	Épithéliums digestifs	Intrahémocytaire
Transmission	Indirecte	Directe
Cycle	Hétéroxène	Monoxène
Survie en dehors de l'huître plate	?	Environ 48 heures
Spectre d'hôtes	Large (huître plate, moule, palourde, couteau, copépodes)	Restreint (huître plate, huître creuse)
Saisonnalité	Été – automne	Hiver – printemps
Paramètres environnementaux	?	?
Distribution environnementale	Zooplancton	Macroinvertébrés benthiques (<i>Ophiothrix fragilis</i>)

Conclusion générale

	<i>Marteilia refringens</i> 	<i>Bonamia ostreae</i> 
Tropisme	Épithéliums digestifs	Intrahémocytaire
Transmission	Indirecte	Directe
Cycle	Hétéroxène	Monoxène
Survie en dehors de l'huître plate	Jusqu'à 20 jours	Environ 48 heures
Spectre d'hôtes	Large (huître plate, moule, palourde, couteau, copépodes)	Restreint (huître plate, huître creuse)
Saisonnalité	Été – automne	Hiver– printemps
Paramètres environnementaux	Hautes températures hiver/été précédent	Basses températures hiver/été précédent
Distribution environnementale	Large (plancton, benthos, espèces associées aux huîtres)	Restreinte (huîtres plates)

Perspectives générales



Production et restauration écologique

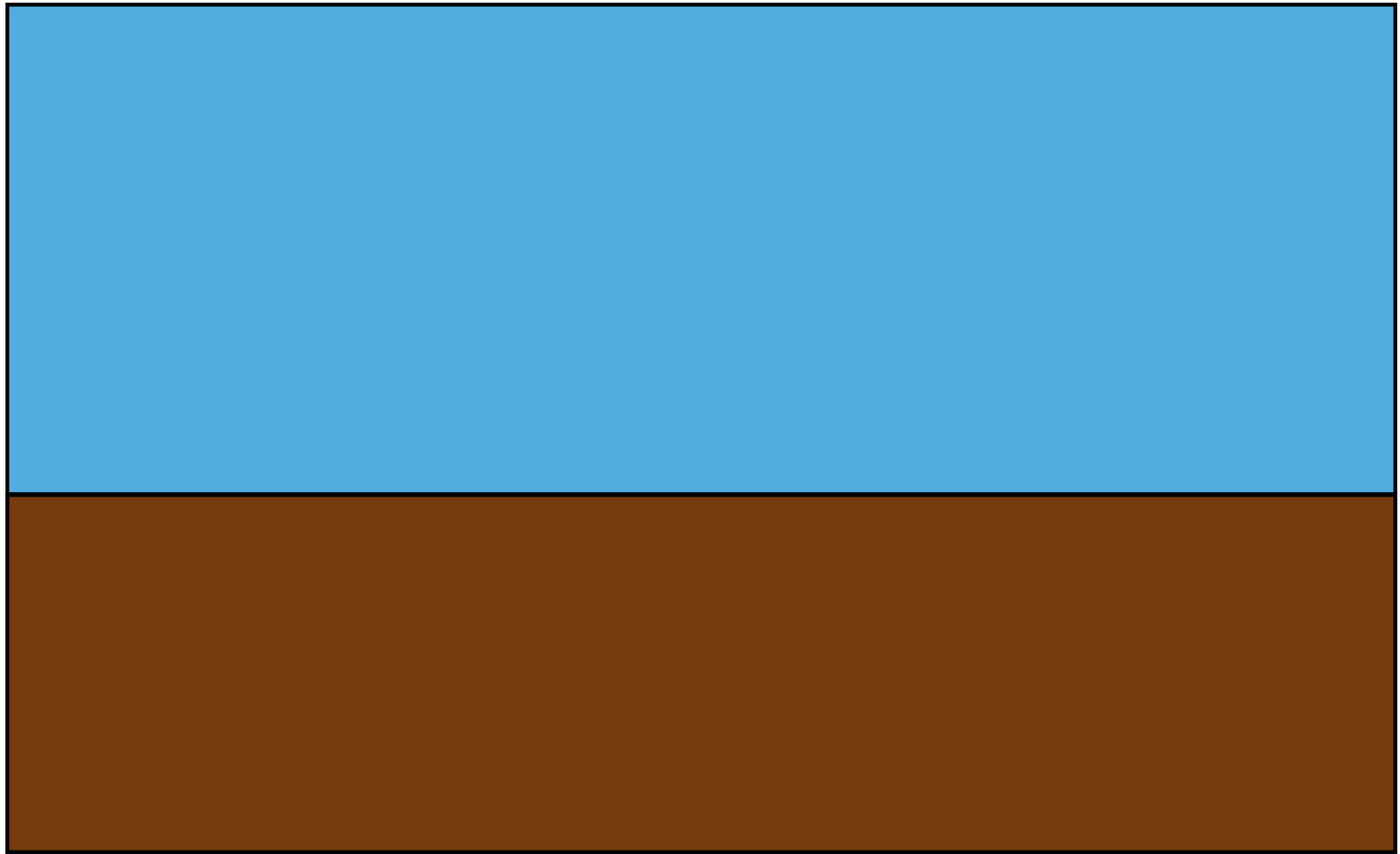
- Approches analytiques de détection d'ADN de parasites
 - Détection précoce dans l'environnement ?
 - Évaluation de l'état de santé d'une zone d'intérêt ?

- Survie des parasites en dehors de l'huître pate
 - Mise en place de « jachère » ?
 - Espacement des élevages / populations restaurées ?
- Distribution environnementale et influence de l'environnement
 - Éloignement du sédiment : élevage en suspension ?
 - Identification de fenêtres climatiques à risques ?

Surveillance

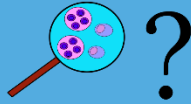
**Gestion d'élevage /
Programme de
restauration**

Perspectives générales



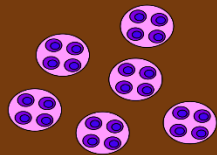
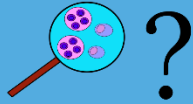
Perspectives générales

Approches analytiques et expérimentales
déclinables à d'autres modèles biologiques



Perspectives générales

Approches analytiques et expérimentales
déclinables à d'autres modèles biologiques



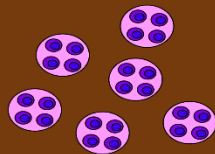
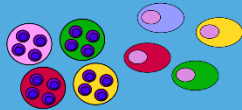
Rôle du benthos :
source / puits de parasites ?

Perspectives générales

Approches analytiques et expérimentales
déclinables à d'autres modèles biologiques



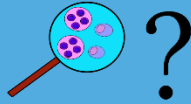
Diversité intraspécifique
des parasites ?



Rôle du benthos :
source / puits de parasites ?

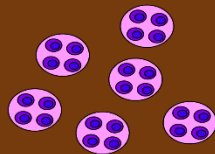
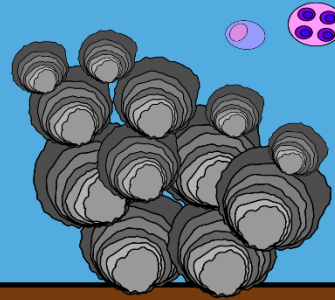
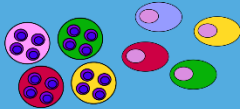
Perspectives générales

Approches analytiques et expérimentales
déclinables à d'autres modèles biologiques



Impact des parasites
sur les populations ?

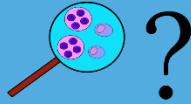
Diversité intraspécifique
des parasites ?



Rôle du benthos :
source / puits de parasites ?

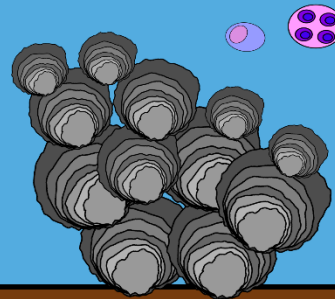
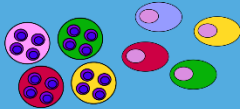
Perspectives générales

Approches analytiques et expérimentales
déclinables à d'autres modèles biologiques



Impact des parasites
sur les populations ?

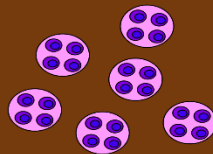
Diversité intraspécifique
des parasites ?



Impact de la macro et
microdiversité ?



Rôle du benthos :
source / puits de parasites ?

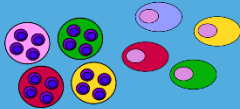


Perspectives générales

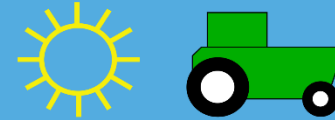
Approches analytiques et expérimentales
déclinables à d'autres modèles biologiques



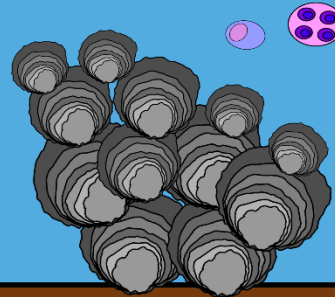
Diversité intraspécifique
des parasites ?



Impact du changement climatique
et des pressions anthropiques



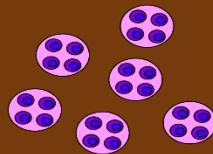
Impact des parasites
sur les populations ?



Impact de la macro et
microdiversité ?



Rôle du benthos :
source / puits de parasites ?



Valorisations

Articles présentés durant la soutenance

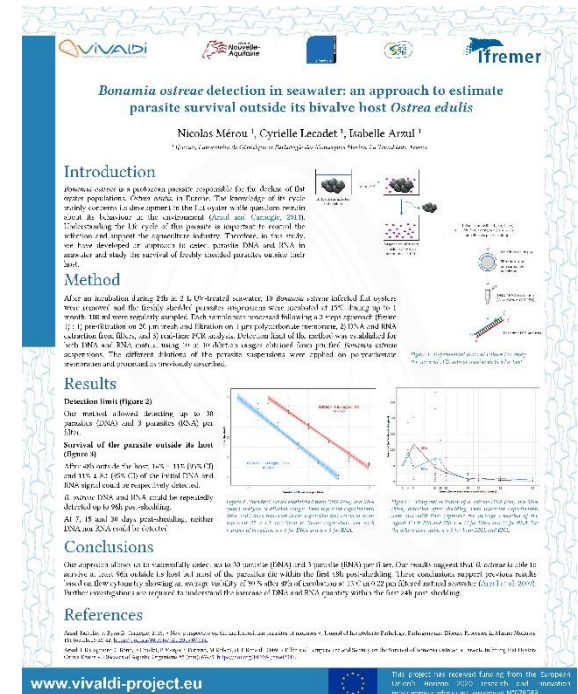
- Mérou, N., Lecadet, C., Pouvreau, S., and Arzul, I. (2020) « An eDNA/eRNA-based approach to investigate the life cycle of non-cultivable shellfish micro-parasites: the case of *Bonamia ostreae*, a parasite of the European flat oyster *Ostrea edulis* ». Microbial Biotechnology 13: 1807–1818.
- Mérou N., Lecadet, C., Billon, T., Chollet, B., Pouvreau, S., and Arzul, I. (In prep.) « Out of the flat oyster *Ostrea edulis* : what happens to the parasite *Marteilia refringens* ».
- Mérou N., Lecadet, C., Pouvreau, S., and Arzul, I. (In prep.) « Investigation of the environmental distribution and temporal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the flat oyster *Ostrea edulis* ».

Valorisations

Communications internationales orales et affichées

- Mérou N., Lecadet C., Arzul I. (2018). *Bonamia ostreae* detection in seawater: an approach to estimate parasite survival outside its bivalve host *Ostrea edulis*. AQUA 2018. 26-29 August 2018, Montpellier, France. Communication affichée.

- Mérou N., Lecadet C., Pouvreau S., Arzul I. (2019). Investigation of *Bonamia ostreae* and *Marteilia refringens* cycle outside their bivalve host *Ostrea edulis*. NORA 2019 Meeting - 2nd NORA Conference. May 21st – 23rd 2019, Edingburgh, Scotland. Communication orale.





Merci à tous.



EURL for Molluscs Diseases



European
Commission



ENVICOPAS

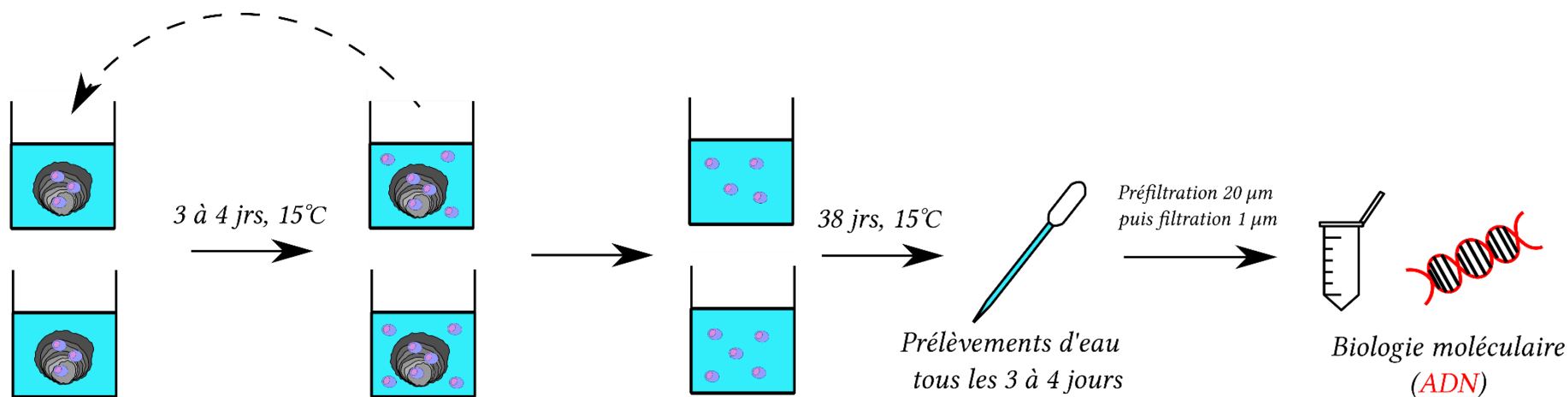


Preventing and mitigating farmed bivalve diseases



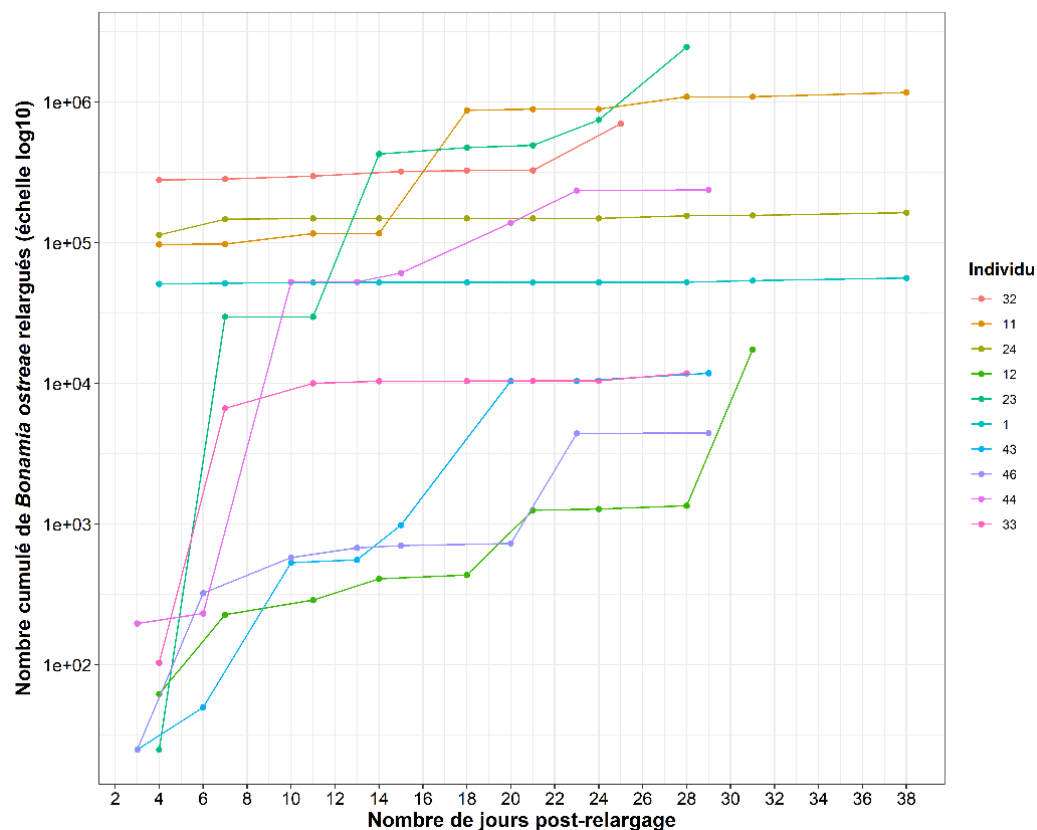
This project has received funding from
the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation programme
under grant agreement N° 678569

Matériel et méthodes - Libération de *B. ostreae*



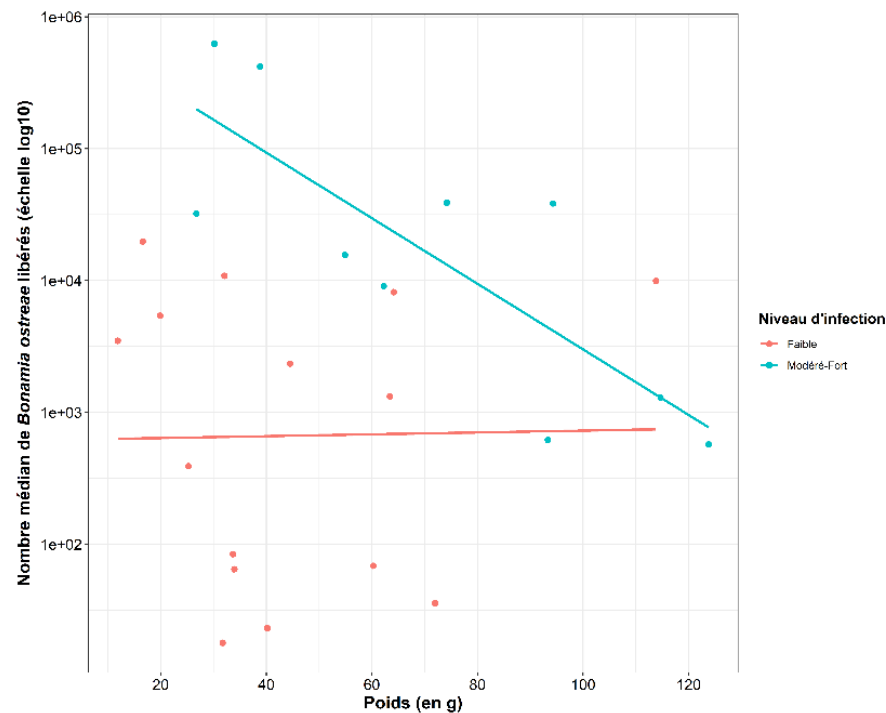
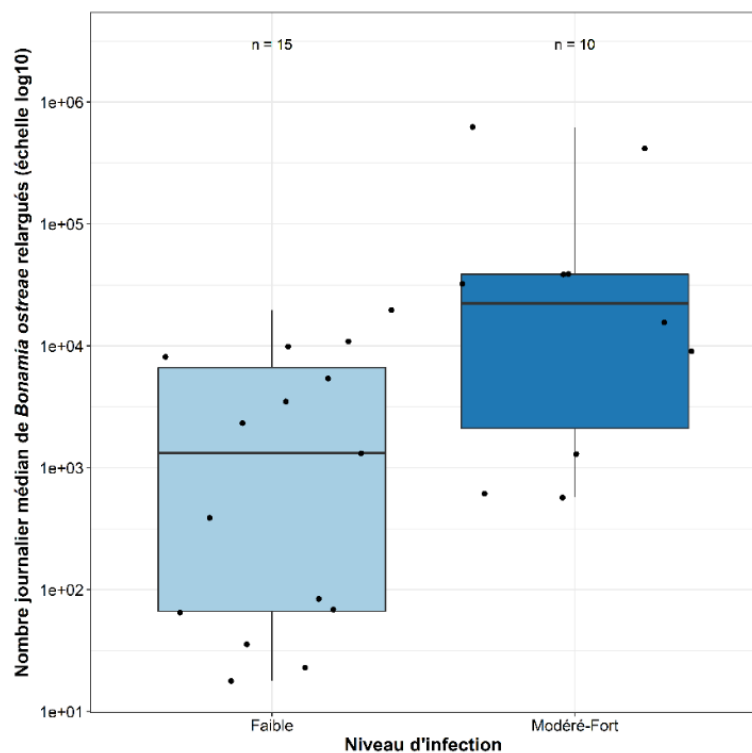
*Huîtres plates
naturellement infectées*

○ Résultats – Libération de *B. ostreae*



- Forte variation individuelle et temporelle de la libération des parasites

Résultats – Libération de *B. ostreae*



■ Modérément – fortement infectés

- Libèrent plus de parasites
- Corrélation négative faiblement significative $N_{\text{parasites libérés}} \sim \text{Poids}$

Résultats – Huîtres plates

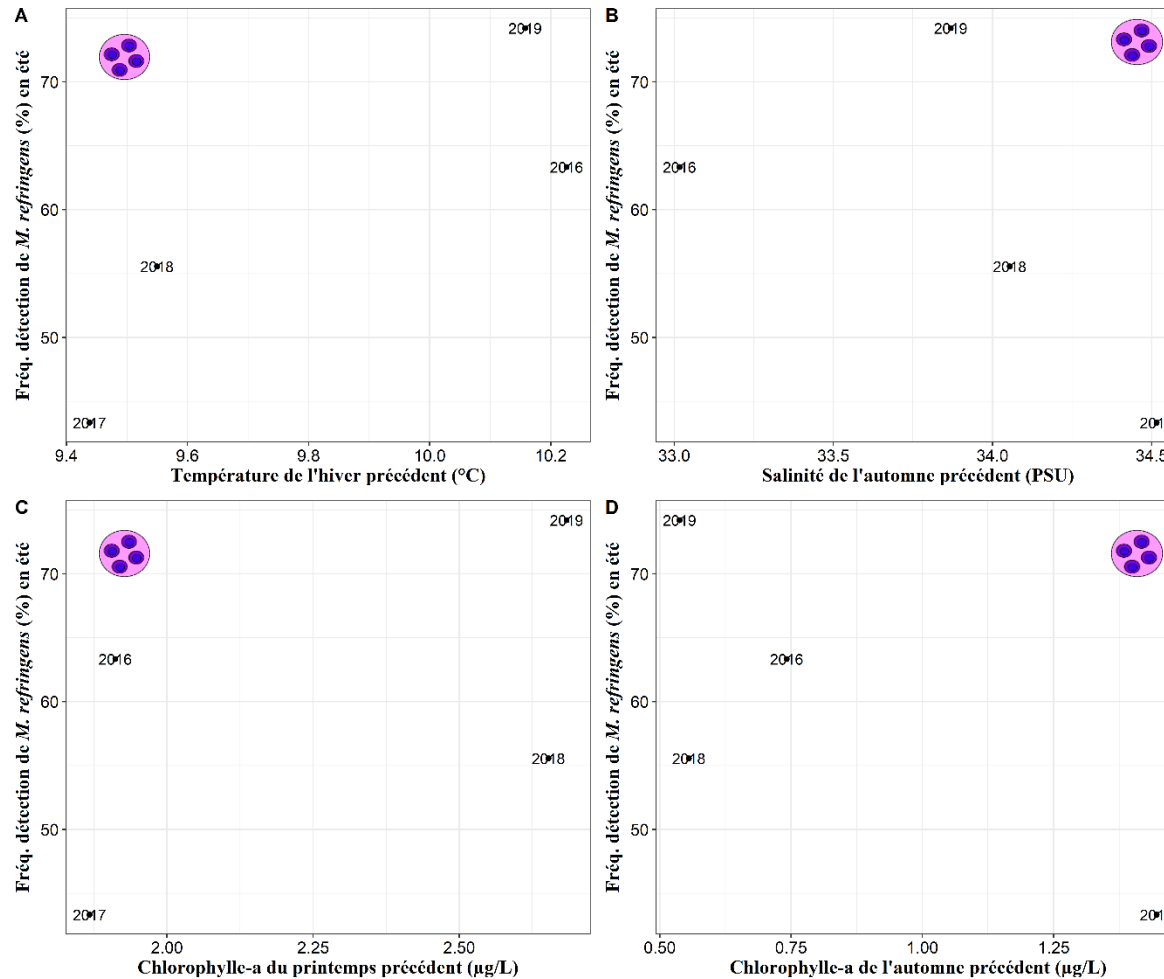
Avril 2018	Ma +	Ma -	Total
Bo +	3	7	10
Bo -	6	14	20
Total	9	21	30

Avril 2018	Ma +	Ma -	Total
Bo +	10	23,33	33,33
Bo -	20	46,67	67,67
Total	30	70	100

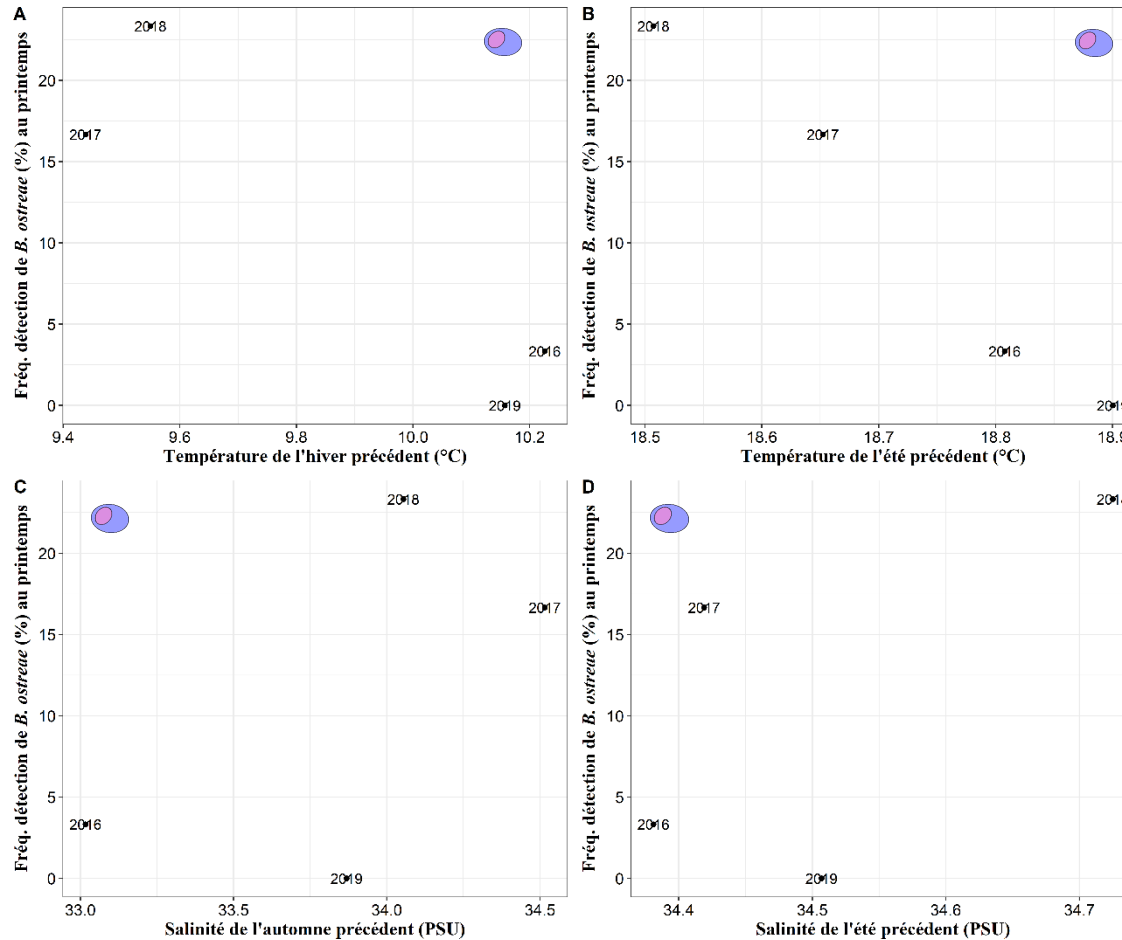
Campagne	p-value Chi-2 (N)	p-value Chi-2 (P)
Mars 2016	NA	NA
Avril 2016	0,74	0,06
Juin 2016	NA	NA
Septembre 2016	1	0,54
Février 2017	1	0,76
Avril 2017	1	0,62
Juillet 2017	1	0,58
Septembre 2017	NA	NA

Campagne	p-value Chi-2 (N)	p-value Chi-2 (P)
Avril 2018	1	1
Juillet 2018	1	0,89
Octobre 2018	1	0,95
Janvier 2019	0,35	0,07
Avril 2019	NA	NA
Juillet 2019	NA	NA
Octobre 2019	1	0,83
Février 2020	1	1

Résultats – Huîtres plates

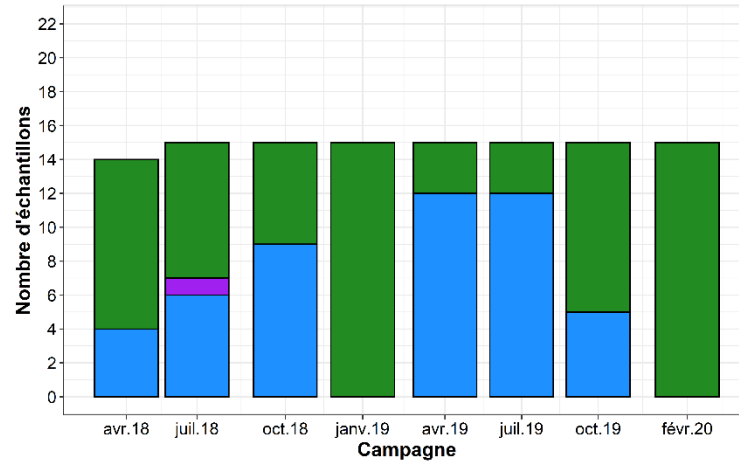


Résultats – Huîtres plates

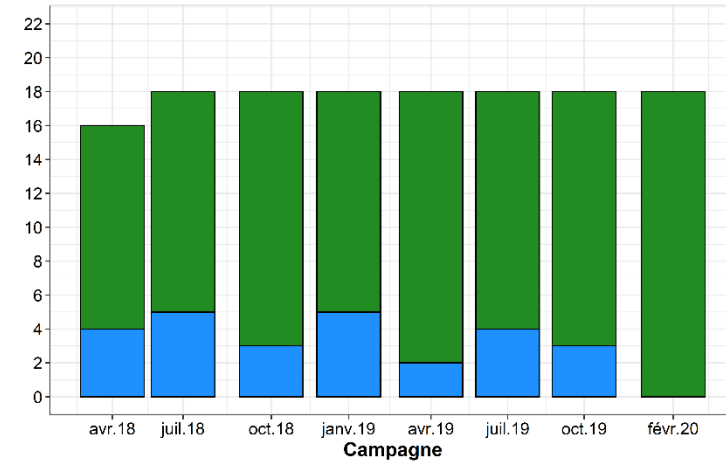


Résultats – Distribution environnementale *

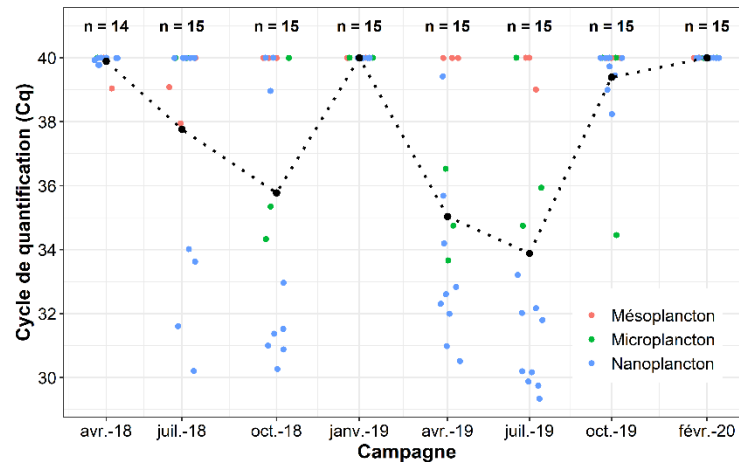
A Plancton



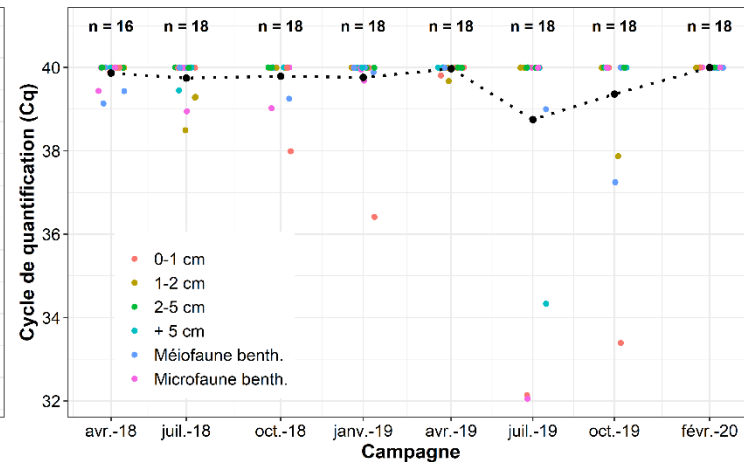
B Benthos



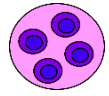
C Plancton



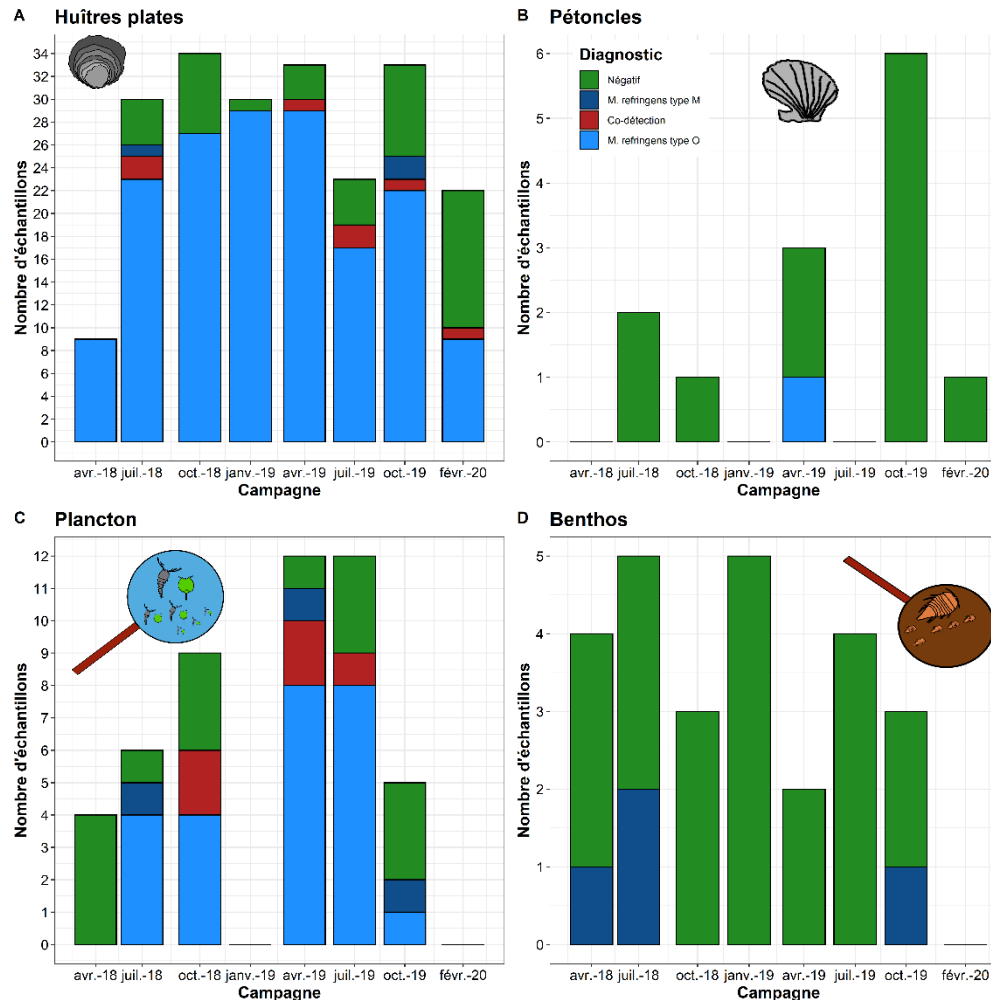
D Benthos



* Mérou et al. « Investigation of the environmental distribution and temporal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the flat oyster *Ostrea edulis* ». *In prep.*



Résultats – Typage *Marteilia refringens* *



* Mérou et al. « Investigation of the environmental distribution and temporal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the flat oyster *Ostrea edulis* ». *In prep.*