

TITRE

GROUPE DE TRAVAIL « HUITRES »-Plan d'action 2020-2023- Comprendre et prévoir l'évolution du socio-écosystème ostréicole dans le cadre du changement global

ANNEE DE PUBLICATION

2019

AUTEURS

Gueguen Yannick, Arzul Isabelle, Gouletquer Philippe

CONTRIBUTEURS

Fleury Elodie, Mitta Guillaume, Vidal Dupiol Jérémie, Lamy Jean-Baptiste, Le Roux Frédérique , Desdouits Marion, Pernet Fabrice, Montagnani Caroline, Morga Benjamin, Toulza Eve, Cosseau Celine, Corporeau Charlotte, Marty Léa , Stavrakakis Christophe, Dégremont Lionel, Petton Bruno, Destoumieux Garzon Delphine

Sommaire

Contexte et limites	3
1- LA SANTE DE L'HUITRE DANS LE CONTEXTE DES CHANGEMENTS GLOBAUX	
1-1 Comprendre l'adaptabilité des huîtres en réponse au changement global	4
Action 1 : étude des effets de stress abiotiques combinés sur la physiologie de l'huître	4
Action 2 : étude des facteurs biotiques et abiotiques interagissant lors d'épisodes infectieux	4
1-2 Comprendre la (co)évolution des interactions entre huître et agents pathogènes dans le contexte de la théorie étendue de l'évolution	5
Action 3 : étude des mécanismes moléculaires responsables de la résistance de l'huître creuse, de la virulence de l'herpesvirus (OsHV1- μ var) et leur coévolution	5
2- L'HUITRE ET SON SOCIO-ECOSYSTEME	
2-1 : Comprendre les interactions entre ostréiculture et émergence de pathogènes	5
Action 4 : étude du rôle de l'huître comme réservoir de pathogènes et niche favorable à l'émergence de résistances et de virulences	5
2-2 : Comprendre les interactions entre l'ostréiculture et son environnement	6
Action 5 : étude des interactions entre l'huître, les pratiques d'élevage et l'environnement à différentes échelles d'observation	6
3 – L'HUITRE « OBJET D'INNOVATION »	
3-1 : Innovations pour une ostréiculture durable	6
Action 6 : étudier l'immunité mémoire et la pseudo-vaccination	7
Action 7 : étudier le microbiote et ses capacités probiotiques	7
Action 8 : étudier les phages lytiques et leur application en aquaculture	7
3-2 : Innovations et santé humaine	7
Action 9 : filtration des virus pour la sécurisation de la production d'huîtres	7
Action 10 : l'huître, un modèle d'étude pour la recherche sur le cancer	8
4 – ACTIONS TRANSVERSALES	
Action transversale 1 : communiquer sur les travaux de la recherche	8
Action transversale 2 : mettre en œuvre une démarche pour la gestion partagée des infrastructures et du matériel biologique	8
Action transversale 3 : développer des actions de recherches sur la détection précoce des émergences : exemple de l'émergence du parasite <i>Haplosporidium costale</i>	9
Action transversale 4 : lever des verrous méthodologiques	9
<i>Verrou 1</i> : Réassemblage du génome de <i>Crassostrea gigas</i>	9
<i>Verrou 2</i> : Caractérisation des populations hémocytaires pour mieux comprendre leur rôle dans le contrôle des agents pathogènes d'huître	10
<i>Verrou 3</i> : Invalidation de gènes (CRISPR-CAS9 / RNAi)	10
Références	11
Annexe : descriptif détaillé de l'ensemble des actions	

Contexte et limites

Fin 2018, la direction d'Ifremer a demandé aux Unités de Recherche travaillant sur l'huître *Crassostrea gigas* de mener une réflexion permettant de faire émerger les « grandes questions scientifiques » sur ce modèle biologique. L'objectif était aussi de rassembler les équipes autour du projet d'Institut et du triptyque Recherche/Innovation/Appui à la puissance publique. Cette démarche a été initiée *via* la création d'un groupe de travail qui a reçu comme mission de rédiger un plan d'actions intégrées visant à accompagner une « trajectoire de développement durable de l'ostréiculture face au changement global ». Le travail a été réalisé en interaction avec les équipes et un point d'étape a eu lieu à Nantes le 21 juin 2019 en présence de la direction des départements RBE, ODE et de la direction scientifique.

Cette réflexion a permis de faire émerger trois axes de recherche ainsi que des actions transversales structurantes. Le 1^{er} axe concerne la *santé de l'huître dans le contexte des changements globaux*. Il a pour ambition d'étudier l'adaptabilité de l'huître à un environnement changeant. Ces travaux permettront de mieux comprendre et prédire le devenir des populations d'huîtres en réponse au changement global. L'intensification des élevages étant souvent associée à l'émergence de maladies, l'étude des mécanismes moléculaires responsables de la résistance de l'huître, de la virulence des agents pathogènes et *in fine* de leur coévolution sera développée. Le 2nd axe concerne *l'huître et son socio-écosystème*. Il a pour objectif d'étudier d'une part le rôle potentiel de l'huître creuse comme réservoir de pathogènes et comme niche favorable à l'émergence de résistances ou de virulences, et d'autre part de mieux comprendre les interactions réciproques entre l'élevage des huîtres et l'environnement et cela à différentes échelles d'observations. Le 3^{ème} axe concerne *l'huître comme objet d'innovation*. Ces travaux évalueront les possibilités de protection des huîtres contre les agents pathogènes par la stimulation de ses capacités immunitaires ou la phagothérapie. L'étude approfondie de l'effet Warburg chez l'huître pourrait aussi participer à la découverte de nouvelles molécules d'intérêt pharmacologique. Enfin, le développement de techniques de filtration spécifiques aux virus sera étudié avec pour objectif la sécurisation des productions.

Durant les discussions, trois actions transversales ont été identifiées. La première est centrée sur la *Communication* avec une volonté de faire évoluer les modalités de communication de l'Ifremer avec la filière dans un objectif de transparence et de prise en compte de ses besoins. La seconde concerne la nécessaire *mise en œuvre d'une gestion partagée à l'échelle de l'Institut des infrastructures expérimentales et du matériel biologique*. Une troisième action liée à la détection récente en France de l'organisme pathogène *Haplosporidium costale* sera mise en place. Enfin, trois verrous méthodologiques transversaux ont été identifiés comme importants à lever: le réassemblage du génome de l'huître, la caractérisation de ses populations hémocytaires et la mise au point de méthodes d'inactivation de gènes chez l'huître.

Le document produit par le GT est composé d'une partie principale décrivant le contexte et les objectifs de chacune des actions proposées. Un document annexe comprend un descriptif détaillé sous forme de fiches projet des différentes actions. A ce stade, certaines actions sont finalisées alors que pour d'autres, les équipes doivent encore échanger pour finaliser le dimensionnement des expérimentations à mettre en œuvre.

1- LA SANTE DE L'HUITRE DANS LE CONTEXTE DES CHANGEMENTS GLOBAUX

1-1 Comprendre l'adaptabilité des d'huîtres en réponse au changement global

Les zones côtières marines sont exposées à l'impact croissant des activités humaines (urbanisation, pollution, eutrophisation...). Elles subissent aussi les effets du changement global avec de nombreux épisodes au cours desquels plusieurs paramètres biotiques et abiotiques (*i.e.* température, oxygène, pH, salinité, courantologie, pollutions chimiques et/ou microbiologiques....) varient subitement et fortement (Plateforme Océan et Climat, 2019). Ces variations peuvent aboutir à des modifications de la composition spécifique des environnements côtiers et à l'émergence d'agents pathogènes. Ces contraintes constituent des facteurs limitants majeurs pour l'ostréiculture et le changement global pourrait entraîner une aggravation des stress et des risques infectieux qu'auront à subir les élevages dans le futur. Pour mieux évaluer et prédire ces risques, les actions 1 et 2 seront mises en œuvre.

→ **Action 1** : étude des effets de stress abiotiques combinés sur la physiologie de l'huître

Des progrès majeurs ont été réalisés sur la compréhension des mécanismes mis en place par l'huître *Crassostrea gigas* en réponse aux contraintes abiotiques les affectant (Zhang, 2012). Néanmoins, cette connaissance reste limitée à un type de contrainte spécifique appliqué aux conditions expérimentales utilisées en laboratoire et ne permet pas de comprendre ce qui se passe dans le milieu naturel où une combinaison de stress se produit de manière simultanée ou séquentielle. Ces expositions chroniques et couplées pourraient induire des sensibilités différentes et probablement accrues (effet de synergie, d'addition) par rapport aux réponses observées lors de mono-expositions.

L'objectif sera d'étudier l'adaptabilité de l'huître en réponse aux changements environnementaux par des approches multi-stress. Pour cela, nous exposerons les animaux à des conditions réalistes et couplées de différents facteurs (température, plastiques, éléments métalliques, hormones) dans des mésocosmes correspondant à différents scénarii de changements environnementaux. Les impacts générés sur les huîtres seront explorés par des approches multidisciplinaires et intégratives tout au long de leur cycle de vie à l'aide d'indicateurs mesurés à l'échelle individuelle et populationnelle au sein et entre les générations. Ces études contribueront à l'apport de connaissances sur la réponse physiologique de l'huître et permettront de mieux évaluer les risques pour la ressource dans le contexte des changements globaux.

→ **Action 2** : étude des facteurs biotiques et abiotiques interagissant lors d'épisodes infectieux ¹

Les phénomènes infectieux constituent un frein majeur pour le développement de l'activité ostréicole. Depuis des décennies, l'huître *C. gigas* connaît des épisodes de mortalité, mais le phénomène s'est considérablement aggravé depuis la fin des années 2000 (Barbosa-Solomieu, 2015). Depuis 2008, les naissains sont touchés par des mortalités massives sur l'ensemble des zones conchylicoles françaises et depuis 2012, des mortalités sont régulièrement relevées sur des animaux adultes (Barbosa-Solomieu, 2015). Les mortalités des naissains ont été attribuées à une maladie associant un herpès virus et des bactéries (de Lorgeril, 2018 ; Petton 2015 ; Segarra 2010) alors que les mortalités d'adultes sont soit liées à

¹ Cette action sera menée dans le cadre du projet ANR DECICOMP 2020-2023 (coordonné par G. Mitta).

L'espèce *Vibrio aestuarianus* (Goudenège, 2015, Azéma et al., 2015), soit à une co-infection *V. aestuarianus* et OsHV-1 (Azéma et al., 2017; Dégremont et al., 2019). Cependant, et dans un souci de simplification indispensable à l'identification des acteurs clés des pathogénèses, ces maladies ont été principalement étudiées en utilisant des approches en milieu contrôlé excluant les facteurs environnementaux interagissant avec les pathosystèmes.

Cette action sera focalisée dans un 1^{er} temps sur les épizooties affectant les huîtres juvéniles et aura pour objectifs : (i) de déterminer comment la température, l'âge des huîtres et leur régime alimentaire contrôlent le développement de la maladie ; (ii) de pondérer les interactions entre tous ces facteurs dans des conditions d'exploitation et (iii) de modéliser la sensibilité des huîtres pour développer des outils d'aide à la gestion des stocks.

1-2 Comprendre la (co)évolution des interactions entre huître et agents pathogènes dans le contexte de la théorie étendue de l'évolution

→ Action 3 : étude des mécanismes moléculaires responsables de la résistance de l'huître creuse, de la virulence de l'herpesvirus (OsHV1- μ var) et leur coévolution

L'interaction entre un hôte et un agent pathogène est caractérisée par une dynamique co-évolutive, au travers de laquelle les deux protagonistes vont s'infliger mutuellement de fortes pressions sélectives. Au gré de la sélection naturelle, les populations d'agents pathogènes vont faire évoluer leurs mécanismes de virulence pour contrer les stratégies de résistance des hôtes qui évoluent, elles-mêmes, en parallèle. Des études récentes menées dans le cadre de la théorie étendue de l'évolution montrent que ces acquisitions phénotypiques pourraient faire intervenir des mécanismes génétiques et non génétiques (Danchin 2013, Cosseau 2017).

L'objectif sera d'étudier dans un 1^{er} temps les interactions entre OsHV-1- μ var et l'huître lors de la maladie affectant les huîtres juvéniles et plus précisément de décrire les mécanismes moléculaires responsables d'acquisitions de résistance chez l'hôte et d'émergence de virulence chez le pathogène. Les approches utilisées permettront l'étude des principaux supports de l'hérédité (génétique, épigénétique et microbiote) et conduiront à l'identification d'outils d'aide à la gestion de la maladie (marqueurs de résistance, de virulence et modèle de coévolution) permettant de répondre de façon plus efficace en cas de nouvelle épizootie.

2- L'HUITRE ET SON SOCIO-ECOSYSTEME

2-1 : Comprendre les interactions entre ostréiculture et émergence de pathogènes

→ Action 4 : étude du rôle de l'huître comme réservoir de pathogènes et niche favorable à l'émergence de résistances et de virulences

L'émergence et la réémergence de maladies infectieuses affectant l'Homme et les espèces animales ou végétales sont étroitement liées à la biologie et à l'écologie des agents infectieux, de leurs hôtes et leurs vecteurs, sous contrainte environnementale. Pourtant nos connaissances, encore limitées, sur la dynamique des agents pathogènes et sur leur évolution dans leurs habitats naturels, nous empêchent de développer des mesures efficaces de contrôle et de prévention (Destoumieux-Garzon, 2018). L'étude des mécanismes d'émergence et de transmission des agents pathogènes dans une approche globale de la santé est cruciale pour expliquer la diffusion des maladies et leur impact au sein de l'écosystème conchylicole. Les huîtres pourraient constituer un réservoir pour leurs propres

pathogènes ou des pathogènes d'autres espèces de l'écosystème. Par leur consommation, elles représentent aussi des vecteurs de maladies infectieuses pour l'homme (Iwamoto, 2010 ; EFSA, 2019). Enfin, par leur biologie et leur habitat, elles concentrent à la fois microorganismes, métaux, pesticides et autres polluants, et représenteraient une niche favorable à l'émergence de pathogènes ou de résistances.

Dans ce contexte, les objectifs seront d'étudier le rôle de l'huître *C. gigas* (i) d'une part comme réservoir de pathogènes (*étude de la diversité des microorganismes pathogènes, de leurs interactions avec l'huître et de leur transmission dans l'écosystème*) et (ii) d'autre part comme niche favorable à l'émergence de résistances aux antibiotiques (*capacité à favoriser la sélection et le transfert de gènes*) afin d'évaluer si certaines pratiques ostréicoles favorisent l'émergence de résistance aux antibiotiques (Surette, 2017).

2-2 : Comprendre les interactions entre l'ostréiculture et son environnement

→ **Action 5**: étude des interactions entre l'huître, les pratiques d'élevage et l'environnement à différentes échelles d'observation

L'ostréiculture est une activité exposée aux aléas environnementaux. Des écloséries dédiées à la production d'huîtres ont été créées pour sécuriser l'approvisionnement en naissain en complément du naissain de captage naturel qui dépend fortement des conditions environnementales. Cette émergence des écloséries, ainsi que la hausse des mortalités d'huîtres en élevage enregistrées depuis 2008, ont transformé le secteur au cours des 25 dernières années et ont contribué à modifier les pratiques culturelles. Les ostréiculteurs se sont adaptés aux surmortalités en augmentant les densités de naissains en élevage, en diversifiant leurs sources d'approvisionnement en naissain et les éclosiers ont initié des programmes de sélections afin de produire des animaux résistants aux maladies. Bien que ces mesures soient considérées comme efficaces du point de vue de la production, leurs impacts sur le plan environnemental demeurent inconnus. Elles entraînent également des changements dans la structure et la gouvernance du secteur ostréicole et peuvent influencer sur la demande et la perception des consommateurs.

Les objectifs seront d'analyser les interactions réciproques entre l'ostréiculture et l'environnement avec une attention particulière sur les changements de pratiques récents. Ces objectifs portent sur différentes échelles spatiales allant de la population à l'écosystème, et reposent sur des approches interdisciplinaires associant sciences de la nature et sciences humaines et sociales. Nous examinerons comment les élevages d'huîtres et les changements de pratique récents influencent les populations cultivées et sauvages, les écosystèmes ainsi que la structure et la gouvernance de la filière ostréicole.

3 – L'HUITRE « OBJET D'INNOVATION »

3-1 : Innovations pour une ostréiculture durable

Les conséquences économiques et environnementales des mortalités récurrentes affectant les élevages de *C. gigas* motivent aujourd'hui de nombreux travaux de recherche dont l'objectif est de comprendre ces phénomènes. Cependant, les solutions proposées pour agir contre ces mortalités reposent principalement sur des programmes de sélection génétique. Dans ce contexte, nous proposons d'étudier également les possibilités de protection des huîtres contre les agents pathogènes par (i) la stimulation des capacités immunitaires de l'huître *via* un immunostimulant ou un virus inactivé ; (ii) la stimulation des capacités

immunitaires de l'huître *via* l'utilisation de probiotiques ou (iii) la phagothérapie. Ces trois pistes d'innovation seront évaluées dans le cadre des actions 6,7 et 8.

→ **Action 6 : étudier l'immunité mémoire et la pseudo-vaccination²**

Chez de nombreux invertébrés, des phénomènes de mémoire immunitaire ont été étudiés. Ces travaux montrent qu'une première exposition à un agent pathogène permet à ces organismes d'avoir une meilleure efficacité de réponse lors d'une seconde infection. Des résultats récents ont déjà fait la preuve de ce concept chez l'huître en montrant que l'exposition de juvéniles à un immunostimulant ou à un virus inactivé permettait de protéger les huîtres face au syndrome de mortalité des juvéniles. L'objectif sera d'explorer les possibilités de stimulation de la réponse et de la mémoire immunitaire pour protéger les huîtres face aux infections et permettre un ensemencement plus raisonné des naissains d'huîtres dans les sites ostréicoles.

→ **Action 7 : étudier le microbiote et ses capacités probiotiques**

De nombreuses études montrent que les microorganismes sont bénéfiques pour la survie, la nutrition, l'homéostasie et le développement des hôtes auxquels ils sont associés. Récemment, des travaux ont aussi permis de mettre en évidence qu'il était possible de stimuler les défenses immunitaires des huîtres en les exposant à une microflore environnementale au cours de leur développement larvaire. Cette stimulation permet aux huîtres juvéniles de mieux survivre lors d'un épisode infectieux ultérieur. L'objectif sera d'étudier l'impact du microbiote sur le statut de santé et l'adaptabilité de l'huître. Ces travaux permettront de proposer une « formule probiotique » applicable lors du développement larvaire ou lors des stades juvéniles avant le déploiement en milieu naturel des huîtres.

→ **Action 8 : étudier les phages lytiques et leur application en aquaculture**

Cent ans après leur découverte (Salmond, 2015; Gordillo 2019), la recherche sur les bactériophages suscite un intérêt croissant pour leurs rôles dans la santé humaine et animale. L'objectif sera d'étudier les applications potentielles de la phagothérapie dans le cadre des maladies affectant l'huître creuse. L'utilisation des phages contre les bactéries pathogènes, dans un contexte d'impasse thérapeutique des antibiotiques, nécessite au préalable le développement de connaissances sur les interactions phage-bactérie. Ces données permettront de définir comment les phages contrôlent les populations microbiennes, facilitent le transfert de gènes et peuvent être utilisés en ostréiculture.

3-2 : Innovations et santé humaine

→ **Action 9 : Filtration des virus pour la sécurisation de la production d'huîtres**

La contamination des huîtres par des virus pathogènes pour les coquillages ou pour l'homme est le résultat d'une contamination des eaux littorales dans lesquelles les coquillages sont élevés. L'objectif sera de développer des techniques de dépuración en bassin par le biais de filtration innovantes préservant une qualité de l'eau compatible avec son utilisation en ostréiculture. Deux approches seront mises en œuvre : l'ultrafiltration sur des membranes microporeuses et la mise au point de filtres biochimiques interagissant spécifiquement avec les virus d'intérêt.

² Cette action sera réalisée dans le cadre du projet STAR (STimulation AntivirALE chez l'huître *Crassostrea gigas*) financé dans le cadre de l'appel à projets Ifremer Inno'idée

→ **Action 10 : L'huître, un modèle d'étude pour la recherche sur le cancer**

L'effet Warburg est l'une des caractéristiques des cellules cancéreuses chez l'homme qui les fait proliférer et les rend résistantes aux traitements. Un dérèglement de leur métabolisme les amène à réserver toute leur énergie à produire des protéines qui assurent une croissance des cellules cancéreuses. L'huître est également soumise à ce mécanisme, mais le mollusque semble être en mesure de l'activer et le désactiver en fonction de son environnement. Les objectifs³ seront (i) d'étudier comment l'huître peut reprogrammer son métabolisme basal vers l'effet Warburg et (ii) décrypter la dynamique des signaux protéiques et métaboliques mis en jeu. Ces données pourraient permettre la découverte de nouvelles molécules pharmacologiques en santé humaine pour la lutte contre le cancer.

4 – ACTIONS TRANSVERSALES

Action transversale 1 : communiquer sur les travaux de la recherche

Les actions de recherche de l'Ifremer en conchyliculture prennent place dans un contexte spécifique à l'organisation d'une filière. Cette dernière est particulièrement administrée par l'Etat, et la Direction des Pêches Maritimes et de l'Aquaculture. Elle est aussi peu structurée et très divisée sur des questions structurantes (huîtres triploïdes, sélection génétique, lutte contre les maladies émergentes...). L'institut a aussi un rôle d'expert auprès des administrations. Ce contexte a pu amener à de fortes tensions entre l'Ifremer et la filière ce qui pousse l'Institut à revoir ses modalités de communication dans un objectif de sensibilisation, de transparence et meilleure prise en compte des besoins de la filière.

L'objectif de cette action sera de mettre en œuvre de nouvelles méthodes permettant de faire évoluer le cadre dans lequel l'Ifremer interagit avec la profession. L'opportunité de lancer cette démarche dans le cadre du Plan d'actions élaboré par le *Groupe de Travail Huîtres* donne la possibilité de présenter une vision intégrée à l'échelle de l'institut des grandes priorités de recherche sur cette thématique. Dès début 2020, des discussions autour du plan d'actions seront réalisées avec les parties prenantes sur les différents bassins ostréicoles. Ces échanges permettront aussi de recueillir les besoins de recherche exprimés par la profession. Dans un second temps, la mise en place de réunions régulières avec les parties prenantes pour le montage et le suivi des projets de recherche sera réalisée. Enfin, la refonte complète du site web aquaculture de l'Institut, qui a vocation à être la vitrine des actions de l'institut dans ce domaine, sera mise en œuvre dès le début de l'année 2020.

Action transversale 2 : mettre en œuvre une démarche pour la gestion partagée des infrastructures et du matériel biologique

Une réflexion a été initiée au sein du *Groupe de Travail Huîtres* afin de faire des propositions d'évolution des infrastructures expérimentales existantes pour que l'Ifremer dispose de moyens expérimentaux les plus pertinents pour réaliser ses activités de recherche. Ces propositions intégreront les besoins de mutualisation entre les équipes en lien étroit avec les questionnements scientifiques. Cette réflexion est menée dans un souci de rationalisation des besoins et des coûts pour l'institut. Les questionnements liés à l'éthique, à la biosécurisation des expérimentations et à la nécessité de confinement des animaux sont pris

³ Un projet lié à cette action est en cours de dépôt à l'ERC Synergy

en compte dans cette réflexion⁴. Une organisation avec un fonctionnement de type plateforme mutualisée à l'échelle de l'Institut sera à privilégier. Pour ce faire, nous proposons de créer un comité de pilotage des installations expérimentales mollusques marins de l'Institut, dans le but de définir un manuel d'organisation de ces plateformes et de positionner au mieux les expérimentations sur les différents sites au regard des critères évoqués précédemment. Ce comité permettra aussi d'identifier les travaux R&D pertinents à initier sur les sites concernés pour répondre aux objectifs de recherche exposés dans ce plan d'actions.

Concernant la production de matériel biologique, la capacité de l'Institut à produire et entretenir des matériels biologiques variés et d'intérêt est un atout majeur pour les projets. L'objectif d'identifier les besoins récurrents et spécifiques des équipes de recherche et de planifier leurs mises en œuvre pour tous les projets envisagés est une nécessité. L'importance de la production de « matériel biologique standardisé » accessible à toutes les équipes de l'Institut a été rappelée. Par ailleurs, un certain nombre de familles d'huîtres creuses présentant des phénotypes d'intérêt pour les questionnements scientifiques sont aussi nécessaires pour les projets⁵. En fonction des besoins en matériels biologiques produits pour les projets, le comité de pilotage pourra proposer une organisation des productions prenant en compte les spécificités des différents sites, le niveau de sécurisation requis et analysera la compatibilité des demandes au regard des moyens disponibles.

Action transversale 3 : développer des recherches sur la détection précoce des émergences : exemple de l'émergence du parasite *Haplosporidium costale*

Le parasite *Haplosporidium costale* a été détecté pour la première fois en France chez l'huître creuse *C. gigas* dans les installations Ifremer le 08 juin 2019. L'Ifremer a immédiatement mis en place des actions de gestion du risque afin de limiter sa propagation et a initié des analyses afin de confirmer le diagnostic, décrire la situation et émettre des hypothèses quant aux facteurs d'émergence. Dans ce contexte, les actions concernant le développement d'outils moléculaires et d'approches microscopiques seront poursuivies afin de mieux caractériser le parasite. Par ailleurs, des analyses seront réalisées sur du matériel biologique d'archive et des animaux prélevés en été 2019. Les résultats de ces analyses détermineront la faisabilité de travaux complémentaires visant à étudier la diversité et le cycle biologique du parasite *H. costale* et plus largement des parasites du genre *Haplosporidium* chez les coquillages. Cette étude de cas permettra aussi de nourrir la réflexion actuellement en cours sur l'évolution de la surveillance des maladies des coquillages visant (i) à coupler des approches de détection ciblées et des approches généralistes (*i.e.* ROME) et (ii) à détecter précocement les cas d'émergence en France.

Action transversale 4 : lever des verrous méthodologiques

Verrou 1 : Réassemblage du génome de *Crassostrea gigas*

La première version du génome de *C. gigas* actuellement disponible est très fragmentée et de « faible qualité » due à des erreurs systématiques d'assemblages. Face aux besoins croissants de la communauté, un consortium français (Ifremer, CNRS, INRA, UPVD et

⁴ En parallèle, les réflexions menées au sein du GT soulignent l'importance de définir des procédures détaillées à diffuser aux équipes concernant la mise en œuvre des expérimentations en milieu naturel.

⁵ Les lignées sensibles ou doublement sensibles ont été détruites suite à la détection du parasite *Haplosporidium costale* dans les infrastructures Ifremer. Le reste du matériel biologique reste disponible (phénotypes « sexe », « croissance », et « lignées résistantes »).

Université de Caen) a décidé de réassembler le génome de l'huître à l'aide de nouvelles technologies de séquençage (Oxford Nanopore technology, 10X genomics et 3C). Cette stratégie semble la seule capable de résoudre la complexité structurale caractéristique de ce génome (forte hétérozygotie, variation structurale de grande taille...). Ce projet s'inscrit dans le cadre plus large d'un projet de mise en œuvre d'un génome browser qui permettra d'intégrer et visualiser toutes les données (polymorphisme, expression, modifications épigénétiques...) relatives à une position dans le génome. Ces travaux permettront à la communauté internationale de disposer d'une référence génomique de qualité, d'avoir un outil de visualisation performant et évolutif indispensable au développement d'études intégratives des mécanismes d'adaptation de l'huître et ainsi de positionner la communauté française comme leader de l'ère post-génomique pour cette espèce.

Verrou 2 : Caractérisation des populations hémoctaires pour mieux comprendre leur rôle dans le contrôle des agents pathogènes d'huîtres

Les hémocytes sont les cellules immunitaires impliquées dans la défense de l'huître face aux agents pathogènes. Ce terme regroupe un continuum cellulaire présentant des différences au niveau structural et il n'existe actuellement pas de classification unifiée. Ce manque de connaissance est en partie lié à un manque d'outils moléculaires permettant la détermination des lignages cellulaires et l'étude des populations fonctionnelles. Au cours des dernières années, les travaux menés ont montré que les hémocytes sont la cible privilégiée des agents pathogènes. Des questions restent néanmoins posées concernant les interactions entre populations hémoctaires et organismes pathogènes. Les objectifs seront (i) de définir les différentes populations hémoctaires par des approches cellulaires et moléculaires en contexte sain et (2) d'étudier les interactions entre les hémocytes et les principaux agents pathogènes d'huîtres.

Verrou 3 : Invalidation de gènes (CRISPR-CAS9 / ARNi)

Au cours des 15 dernières années, le développement des approches de séquençage haut débit a multiplié le nombre d'études génomiques sur l'huître *C. gigas* (Riviere et al. 2015). Face à l'accumulation de ces données, le challenge est désormais de déchiffrer la fonction des gènes pour ce modèle biologique. L'approche d'interférence de l'ARN (ARNi) est l'approche la plus utilisée pour étudier la fonction des gènes. Chez l'huître, son application s'est avérée efficace pour certains gènes mais difficile à généraliser sur tous les tissus et pour toutes les fonctions biologiques. Depuis 2012, les chercheurs disposent désormais d'un nouvel outil permettant l'étude de la fonction de gènes par édition du génome, le système CRISPR-Cas9. Ce nouvel outil a amorcé une vraie révolution dans le champ de la génomique fonctionnelle, notamment chez des espèces non modèles. Etant donné les enjeux éthiques soulevés par l'utilisation de cet outil, l'Ifremer a mis en place en 2019 un réseau thématique (Crispr-cas9 In mollusc Bivalves- CIBI) afin de définir les champs d'application de cette méthode chez les mollusques bivalves. Cette première étape servira de base pour réaliser ensuite la « preuve du concept » de l'application du Crispr-Cas9 chez l'huître et élargir son utilisation. L'exploration de l'application de ce système demandera plusieurs années, des infrastructures expérimentales adaptées et biosécurisées. En attendant, l'utilisation de la technique d'ARNi reste une technique d'intérêt dans certains contextes expérimentaux mais des mises au point sont encore à réaliser.

Références

- Azéma, P. et al., 2015. Can selection for resistance to OsHV-1 infection modify susceptibility to *Vibrio aestuarianus* infection in *Crassostrea gigas*? First insights from experimental challenges using primary and successive exposures. *Vet. Res.* 46, 139.
- Azéma, P. et al., 2017. The use of size and growing height to improve *Crassostrea gigas* farming and breeding techniques against OsHV-1. *Aquaculture.* 471, 121-129
- Barbosa Solomieu, V. et al., 2015. Mass mortality in bivalves and the intricate case of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Invertebr. Pathol.* 131, 2–10.
- Dégremont, L. et al., 2019. Synthesis of the “Plan de sauvegarde” using selected all-triploid oysters to reduce the shortage of spat in France due to OsHV-1–associated mortality in *Crassostrea gigas*. *Aquaculture.* 505, 462-472
- Cosseau, C., et al., 2016. (Epi) genetic Inheritance in *Schistosoma mansoni*: A Systems Approach. *Trends in Parasitology.* 33,285-294.
- Danchin, E. 2013. Avatars of information: Towards an inclusive evolutionary synthesis. *Trends in ecology & evolution* 28:351-358.
- de Lorgeril J. et al., 2018. Immune-suppression by OsHV-1 viral infection causes fatal bacteraemia in Pacific oysters. *Nat. Commun.* 9, 4215.
- Destoumieux-Garzón D. et al., 2018. The One Health concept: 10 years old and a long road ahead *Frontiers in Veterinary Science* 5: 14
- Gordillo Altamirano, F. L. & Barr, J. J., 2019. Phage Therapy in the Postantibiotic Era. *Clin Microbiol Rev* 32, doi:10.1128/CMR.00066-18.
- Goudenege et al., 2015. A single regulatory gene is sufficient to alter *Vibrio aestuarianus* pathogenicity in oysters. *Environmental Microbiology* , 17(11), 4189-4199 .
- Iwamoto M, et al., 2010. Epidemiology of seafood-associated infections in the United States. *Clin Microbiol Rev.* 23(2):399–411.
- Petton, B. et al. (2015) *Crassostrea gigas* mortality in France: the usual suspect, a herpes virus, may not be the killer in this polymicrobial opportunistic disease. *Front Microbiol.* 6, 686,
- Plateforme Océan et Climat, 2019. Océan et Changement climatique : les nouveaux défis. *Focus sur 5 grands thèmes du Rapport Spécial « Océan et Cryosphère »*, 40 pages
- EFSA (European Food Safety Authority), 2019. Scientific report on analysis of the European baseline survey of norovirus in oysters. *EFSA Journal* 17(7):5762, 86pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5762>
- Riviere G. et al., 2015. GigaTON: an extensive publicly searchable database providing a new reference transcriptome in the pacific oyster *Crassostrea gigas*. *BMC Bioinformatics.* 16: 401
- Salmond, G. P. & Fineran, P. C., 2015. A century of the phage: past, present and future. *Nat Rev Microbiol* 13, 777-786, doi:10.1038/nrmicro3564.
- Segarra, A. et al. 2010. Detection and description of a particular Ostreid herpesvirus 1 genotype associated with massive mortality outbreaks of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in France in 2008. *Virus Res* 153, 92-99,
- Surette, M. D., 2017. Lessons from the Environmental Antibiotic Resistome. *Annu Rev Microbiol* 71, 309-329, doi:10.1146/annurev-micro-090816-093420.
- Zhang, G. et al., 2012. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature* 490, 49–54.