

Proposition d'un sujet de Master II - 3^{ème} année ingénieur
Physiologie, Biologie moléculaire

Intitulé du Sujet : Identification de marqueurs précoces des mortalités estivales affectant le naissain d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*

Durée du stage : 6 mois, à partir de février/mars 2015

Laboratoire d'accueil :

IFREMER station La Trinité sur Mer

Laboratoire Environnement Ressource Morbihan / Pays de la Loire

12, rue des Résistants - 56470 La Trinité sur Mer

et

IFREMER laboratoire PFOM/PI UMR 6539 LEMAR

Centre de Bretagne

ZI de la Pointe du Diable - CS 10070 - 29280 Plouzané

Responsable scientifique

Dr Elodie Fleury : cadre de recherche, IFREMER La Trinité sur Mer

Co-encadrants

Dr Julien Normand : cadre de recherche, IFREMER Port en Bessin

Virgile Quillien : technicien biologie moléculaire, IFREMER Brest

Descriptif du sujet

1) Contexte scientifique

Depuis 2008, de fortes mortalités associées à un agent pathogène (Herpes virus OsHV-1 μ var) affectent la plupart des lots de naissain d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* sur l'ensemble du littoral français. Alors que la contagion des lots de naissain mis en élevage semble aujourd'hui difficilement évitable, il semble que l'intensité des mortalités puisse être modulée par des facteurs de l'hôte et de l'environnement. Plusieurs études ont ainsi montré qu'une huître physiologiquement affaiblie dans un contexte environnemental défavorable sera plus sensible aux agents pathogènes. De plus, d'autres études réalisées par infection expérimentale ont déjà mis en évidence que le métabolisme de l'huître peut être impacté avant même que les agents pathogènes ne provoquent la mortalité. L'ensemble de ces résultats laisse donc supposer que la mortalité ne constitue pas un indicateur direct de la pression en pathogène dans un milieu donné, et que l'huître est capable de modifier son métabolisme afin d'optimiser sa réponse aux agressions extérieures (maladies et variations des paramètres du milieu d'élevage).

Ces modifications métaboliques se traduisent par des variations significatives d'expression de certains gènes ou de quantité de protéines « cibles » avant l'apparition des mortalités. Ces « cibles » peuvent alors être utilisées en tant que bio-marqueurs *in situ* de la réponse physiologique précoce de l'huître, afin de mieux prédire leur susceptibilité aux mortalités.

Depuis 2009, l'Ifremer met en œuvre un suivi spatio-temporel des taux de mortalités sur les naissains d'huîtres creuses via le réseau RESCO (RESeau d'observations CONchylicoles) qui permet d'analyser les évolutions des taux de mortalités de naissains, en lien avec l'évolution des paramètres environnementaux (température, salinité, pression, flores phytoplanctoniques ...) : http://wwz.ifremer.fr/observatoire_conchylicole.

Parallèlement à ces suivis, en 2014, une action plus spécifique (nommée PHYSITU pour statut PHYsiologique de l'huître in SITU) a consisté à réaliser des mesures d'expression de gènes impliqués dans la réponse des naissains aux mortalités afin de qualifier, sur une même fréquence, l'évolution du statut physiologique de l'huître avant, pendant, et après les mortalités. Cette action a permis, entre autre, d'identifier 4 gènes ou « marqueurs d'intérêt », dont l'expression semble varier significativement selon les périodes avant et après mortalité.

2) Objectifs du stage

Compte tenu du contexte décrit ci-dessus, le stage propose de se baser sur les résultats préliminaires acquis dans le cadre de l'action PHYSITU pour tester, en conditions d'élevage standard, la validité de marqueurs sélectionnés en tant que gènes d'intérêt lors de cette étude. Pour ce faire, un plan expérimental sera déployé *in situ* afin de tester la robustesse de ces 4 gènes candidats en tant que marqueurs précoces de la réponse de l'huître face aux mortalités, à l'échelle du groupe.

Plus précisément, différents groupes de naissains d'huîtres (une 30^{aine} de groupes comprenant 100 individus) seront préalablement identifiés avant d'être déployés en « common garden » (*i.e.* regroupés au sein d'une même poche pour ne pas créer de biais inter-poches) sur un site régulièrement impacté par les mortalités estivales, en employant les protocoles standardisés mis en œuvre par le réseau RESCO. Des prélèvements d'individus seront réalisés au sein de chaque groupe avant la mise à l'eau, puis peu avant l'apparition des mortalités. Les différents groupes seront ensuite laissés sur site pour une estimation du taux de mortalité cumulée finale. Des mesures d'expression des 4 gènes candidats seront réalisées sur le prélèvement initial et sur le prélèvement le plus amont des mortalités. L'exploitation des résultats focalisera sur les relations entre, d'une part, le niveau moyen d'expression des gènes d'intérêt pour un lot donné, et d'autre part, les taux de mortalité cumulé finaux observés pour ce même lot.

Les objectifs du stage seront donc :

- De travailler sur le plan expérimental permettant de tester la robustesse des gènes candidats identifiés dans PHYSITU à l'échelle du groupe et de l'individu
- De réaliser un suivi *in situ* de différents groupes d'individus préalablement marqués

- De déterminer si la variation des taux de mortalité intergroupe est corrélée à celle de l'expression des gènes candidats, via la mesure d'expression de gènes (analyses statistiques sous R)
- De valider si ces marqueurs peuvent être utilisés de façon récurrente pour la surveillance de la qualité des écosystèmes côtiers

Les expérimentations de biologie moléculaire et de biochimie seront réalisées au sein du laboratoire de Physiologie Fonctionnelle des Organismes Marins (PFOM, Ifremer Brest) : pour cela, une mission d'environ 3 semaines sera prévue dans ce laboratoire, début juillet.

Intérêts du stage

- Utilisation de techniques de biologie moléculaire de pointe au sein d'un laboratoire spécialisé dans ce domaine (laboratoire PFOM, Ifremer Brest)
- Participation à des suivis terrains in situ, dans le cadre d'un réseau d'observation national (laboratoire LER MPL Trinité sur mer)
- Implication dans une thématique d'actualité, associée à un contexte scientifique bien défini (surmortalité de l'huître *C. gigas*) faisant appel à un jeu de données complexe
- Traitement et analyses des données en vue de la rédaction d'un article scientifique (laboratoire LER MPL Trinité sur mer)
-

Compétences requises :

- Expérience en biologie moléculaire et biochimie
- Connaissances techniques d'analyse de données, et de logiciels de statistiques appliqués
- Autonomie, organisation
- Esprit d'initiative et d'équipe
- Des notions de biologie et de physiologie des mollusques seraient un plus

Des indemnités sont prévues pour le stage.

Merci de contacter par mail Elodie Fleury en envoyant CV et lettre de motivation : efleury@ifremer.fr