

Sujet de stage 2015

Intitulé : Les fonctions des hémocytes, cellules clé de l'immunité, sont-elles impactées chez la crevette bleue du Pacifique *Litopenaeus stylirostris* lors de l'infection par le *Vibrio nigripulchritudo*.

Encadrement : Viviane Boulo (viviane.boulo@ifremer.fr)

Lieu : IFREMER Unité LEAD NC
Station de Saint Vincent
Boulouparis BP 2059
98846 Nouméa Cedex Nouvelle Calédonie
(Station située « en brousse », à 80 km au nord de Nouméa)

Contexte de l'étude :

En Nouvelle-Calédonie, la production de crevettes repose sur l'espèce *Litopenaeus stylirostris*, originaire d'Amérique Centrale et du Sud, qui a été introduite au début des années 70. Cette espèce a été progressivement domestiquée sur le territoire depuis une trentaine de générations. La production, bien qu'importante pour le territoire puisque constitue la deuxième activité économique derrière l'industrie du nickel, représente moins de 1% de la production mondiale. La production qui était de 2400 tonnes en 2004-2005, a connu un net recul ces dernières années, 1200 tonnes environ en 2013. Cette baisse de production est principalement due à des pathologies d'origine bactérienne, deux vibrios, *V. penaeicida* (Goarant *et al.*, 1998) et *V. nigripulchritudo* (Goarant *et al.*, 2000) ont été identifiés comme responsables d'épizooties. Ces 2 vibrios ont un caractère saisonnier, et impactent les productions principalement aux intersaisons, c'est à dire aux changements de températures. Cependant, l'origine de ces maladies ne peut pas être expliquée par un facteur unique tel que la présence de vibrio. La combinaison de plusieurs facteurs provoquerait la maladie, en particulier, l'interaction entre l'écosystème bassin, les crevettes et l'agent pathogène. Ces maladies s'expriment, sous forme d'épizooties brèves devenant chroniques et réapparaissant d'une année à l'autre. Des mortalités dues au *V. penaeicida* sont observées dans toutes les fermes de crevettes réparties sur le territoire, alors que les mortalités dues à *V. nigripulchritudo* sont localisées à quelques fermes. Seuls les animaux ayant atteint le stade de la formule rostrale complète, donc plus de 22 jours après la métamorphose sont affectés et subissent des mortalités, alors que le vibrio est potentiellement présent dans le milieu depuis le début de l'élevage.

Chez *V. nigripulchritudo*, 3 pathotypes ont été identifiés selon leur niveau de pathogénité chez la crevette, qui se différencient par la présence de plasmides (Leroux *et al.*, 2011):

- Le HP, hautement pathogène, contient 2 plasmides et l'ADN chromosomique
- Le MP, moyennement pathogène, contient 1 seul plasmide et l'ADN chromosomique
- Le NP, non pathogène, contient seulement l'ADN chromosomique.

De plus un gène codant une exotoxine, pA0182 (Goudenege *et al.*, 2013) a été identifié chez *V. nigripulchritudo* et démontré impliqué dans la virulence de ce vibrio. Ce gène contenu dans l'un des plasmides a été identifié chez *V. penaeicida*.

Le système immunitaire des crevettes pénéides, et plus généralement des invertébrés, repose sur une réponse rapide et assez peu spécifique, dite innée, basée sur la complémentarité de mécanismes humoraux et cellulaires, contrôlés par les hémocytes, cellules sanguines immunocompétentes. Ces cellules sanguines sont impliquées dans la reconnaissance du non-soi et la production de nombreux effecteurs de l'immunité intervenant notamment dans la coagulation, la mélanisation et la réponse antimicrobienne. Chez les pénéides du genre *Litopenaeus*, notamment chez *L. vannamei*, des travaux ont mis en évidence l'expression différentielle de gènes appartenant à diverses catégories fonctionnelles et aussi potentiellement impliqués dans l'immunité après des challenges avec des bactéries pathogènes ou non (Bachère *et al.*, 2004 ; Li *et al.*, 2013). Chez *L.*

stylirostris, les quelques études ont conduit à l'identification de gènes différentiellement exprimés dans les hémocytes chez des crevettes survivantes à une infection par *V. penaeicida* (De Lorgeril *et al.*, 2005 ; 2008). Ces gènes sont potentiellement impliqués dans l'immunité et la prolifération cellulaire.

Objectif de l'étude - Sujet

Les objectifs du stage proposé visent à déterminer l'impact de l'infection par *Vibrio nigripulchritudo* ou/et de la toxine pA0182 sur les hémocytes et plus particulièrement sur la fonction telle que la phagocytose chez la crevette, *L. stylirostris*. Pour cela la capacité à phagocyter des hémocytes sera analysée en cytométrie de flux pour déterminer un index de phagocytose, et l'expression de gènes potentiellement impliqués dans l'immunité sera quantifiée par PCR en temps réel.

Projet/action associée : Dédution/étude de la virulence des vibrios pathogènes

Niveau requis pour le stage : Master1 recherche, connaissances en biologie moléculaire et cellulaire

Période : Janvier à Juin 2015

Durée 4 mois

Hébergement : Un logement est possible (selon disponibilité) sur le site du laboratoire, qui est relativement isolé : Station Aquacole de Saint-Vincent - Boulouparis.

Indemnité : Selon niveau de formation

Commentaire : Les frais de voyage (tel que billet d'avion France/Nouvelle Calédonie/France) sont à la charge du stagiaire.

Références :

Goarant C, Règnier F., Brizard R. and Marteau A.L., 1998. Acquisition of susceptibility to *Vibrio penaeicida* in *Penaeus stylirostris* postlarvae and juveniles. *Aquaculture* 169 : 291–296.

Goarant C., Herlin J., Brizard R., Marteau A.L., Martin C. and Martin B., 2000. Toxic factors of *Vibrio* strains pathogenic to shrimp. *Dis. Aqua. Org.*, 40: 101-107.

Le Roux F., Labreuche Y., Davis B.M., Iqbal N., Mangenot S., Goarant C., Mazel D. and Waldor M.K., 2011. Virulence of an emerging pathogenic lineage of *Vibrio nigripulchritudo* is dependent on two plasmids. *Environ. Microbiol.*, 13 : 296–306.

Goudenège D., Labreuche Y., Krin E., Ansquer D., Mangenot S., Calteau A., Médigue C., Mazel D., Polz M.F. and Le Roux F., 2013. Comparative genomics of pathogenic lineages of *Vibrio nigripulchritudo* identifies virulence associated traits. *ISME*, 1–12.

Bachère E., Gueguen Y., Gonzalez M., De Lorgeril J., Garnier J. and Romestand B., 2004. Insights into the anti-microbial defense of marine invertebrates: the penaeid shrimps and the oyster *Crassostrea gigas*. *Immunol. Reviews* 198: 149–168.

Li F. and Xiang J., 2013. Recent advances in researches on the innate immunity of shrimp in China. *Dev. and Comp. Immunol.*, 39: 11–26.

De Lorgeril J., Saulnier D., Janech M. G., Gueguen Y. and Bachère E., 2005. Identification of genes that are differentially expressed in hémocytes of the Pacific blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) surviving an infection with *Vibrio penaeicida*. *Physiol Genomics* 21: 174–183.

De Lorgeril J., Gueguen Y., Goarant C., Goyard E., Mugnier C., Fievet J., Piquemal D. and Bachère E., 2008. A relationship between antimicrobial peptide gene expression and capacity of a selected shrimp line to survive a *Vibrio* infection. *Mol. Immunol.* 45 : 3438–3445.