



HAL
open science

Bases génétiques et fonctionnelles de la résistance à la bactérie *Flavobacterium psychrophilum* chez la truite arc-en-ciel (*O. mykiss*)

Edwige Quillet, Christian Michel, Véronique Laurens, Marie-Paule Lefranc,
Pierrick Haffray

► To cite this version:

Edwige Quillet, Christian Michel, Véronique Laurens, Marie-Paule Lefranc, Pierrick Haffray. Bases génétiques et fonctionnelles de la résistance à la bactérie *Flavobacterium psychrophilum* chez la truite arc-en-ciel (*O. mykiss*). Séminaire GENANIMAL, 2012, NA, France. pp.60-62. hal-01190197

HAL Id: hal-01190197

<https://hal.science/hal-01190197>

Submitted on 3 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Bases de la résistance à une bactérie pathogène chez la truite

Présenté par : Edwige QUILLET
Courriel : edwige.quillet@jouy.inra.fr

Titre du projet financé par l'ANR, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées :

FLAVORES - Genetic and functional basis of rainbow trout (*O. mykiss*) resistance to *Flavobacterium psychrophilum* (2008-10) Edwige Quillet ¹, Christian Michel ², Véronique Laurens ³, Marie-Paule Lefranc ⁴, Pierrick Haffray ⁵

Projet soutenu dans le cadre de l'édition 2007 de l'appel à projets GENANIMAL

¹ INRA, UMR 1313 GABI, 78350 Jouy-en-Josas ; ² INRA, UR 892 Virologie Immunologie Moléculaire, 78350 Jouy-en-Josas ; ³ INSERM UMR 866, University of Burgundy, Institut Fédératif de Recherche Santé STIC, 21000 Dijon ; ⁴ IMGT, Laboratoire d'ImmunoGénétique Moléculaire, LIGM, Université Montpellier 2, UPR CNRS 1142, Institut de Génétique Humaine, IGH, Montpellier, France & Institut Universitaire de France, Paris ; ⁵ SYSAF Station SCRIBE, INRA, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes.

Mots clefs : disease resistance, rainbow trout, *Flavobacterium psychrophilum*, immunity, MHC, clonal lines

Résumé

Le projet a pour ambition l'exploration chez la truite arc-en-ciel, des bases génétiques et fonctionnelles de la résistance à *Flavobacterium psychrophilum*, une bactérie qui provoque des mortalités importantes dans les élevages de salmonidés. Il associe généticiens, bactériologistes et immunologistes pour (i) identifier du matériel biologique (clones de truite) de performance contrastée en terme de résistance à la bactérie, support des études ultérieures ; (ii) décrire la diversité de la réponse de l'hôte au pathogène par des approches fonctionnelle (phénotypes constitutifs de la réponse immunitaire, expression de gènes candidats et profils transcriptomiques) et génétique (polymorphisme des gènes du MHC et cartographie de QTL) et (iii) acquérir les informations de base nécessaires à l'introduction de la résistance à la maladie dans les schémas de sélection. Une première étude de gènes possiblement responsables de la virulence chez la bactérie, à travers le test de mutants bactériens d'insertion, complète ces approches.

Principaux résultats obtenus et applications envisageables

Un criblage de lignées isogéniques homozygotes de truite a d'abord permis d'identifier des groupes de résistance opposée. Ces lignées sont utilisées comme support pour explorer les mécanismes de virulence bactérienne d'une et différentes facettes de la réponse de l'hôte à l'infection d'autre part.

Mécanismes de virulence : l'infection avec 2 souches bactériennes différentes (JIP 02/86 représentative des populations associées à la truite arc-en-ciel et THC 02/90 représentative des populations associées aux saumons du Pacifique) révèle des différences marquées dans la cinétique de l'infection et les symptômes associés. Plus de 1200 mutants bactériens ont été induits chez THC 02/90 grâce au transposon Tn4351. Un génotypage à moyen débit a permis une préselection de mutants de virulence potentiellement atténuée. L'approche a été validée avec des phénotypes bactériens faciles à observer (perte de pigmentation ou de mobilité). Parmi les 10 mutants testés in vivo avec une lignée de truite hautement sensible, deux ont montré une virulence moyennement ou fortement atténuée, confirmant le rôle potentiel des gènes invalidés dans la virulence.

Réponse de l'hôte à l'infection : la comparaison de lignées de sensibilité opposée pour les composantes de la réponse innée suggère un rôle limité de la phagocytose et une participation complexe du complément à la résistance. L'analyse des modifications du transcriptome du pronephros par l'infection a été aussi étudiée chez une lignée sensible et une lignée résistante. Cette analyse comparée, effectuée grâce aux puces Agilent génériques de truite, met en évidence la même réponse transcriptionnelle centrale dans les deux cas, associée à une réponse innée antibactérienne : les gènes des médiateurs de l'inflammation comme l'IL1 ou mmp9/13 sont fortement induits de même que des cytokines régulatrices comme l'IL10. Globalement, l'analyse transcriptomique effectuée 5 jours après infection ne révèle pas des orientations différentes de la réponse immunitaire innée contre *Flavobacterium*, la principale différence entre sensibles et résistants étant l'intensité de la réponse inflammatoire, plus modeste chez les résistants où la charge bactérienne est aussi plus réduite. La cinétique de la réponse transcriptionnelle serait plus révélatrice des

différences de réponse entre les deux fonds génétiques. Cependant, une induction plus marquée des gènes (multiples chez la truite) du complément C3 a été observée chez les résistants, correspondant potentiellement à une réponse antibactérienne plus marquée dans ce contexte.

Structure et polymorphisme de gènes candidats : les individus homozygotes ont servi de support à une caractérisation poussée de la structure et du polymorphisme des gènes MH chez la truite. De nouvelles séquences ont été produites pour les gènes de classe I et II classiques et non classiques. Les séquences, soumises dans EMBL, ont été incorporées dans la base de données de séquences nucléotidiques IMGT/LIGM-DB, dans IMGT/DomainDisplay et dans IMGT Répertoire selon les critères standardisés de classification (nomenclature des gènes et allèles), de description (labels IMGT) et numérotation (IMGT Colliers de Perles) du système IMGT® (<http://www.imgt.org>). Si les analyses de liaison n'ont pas confirmé le rôle des gènes MH étudiés dans la variabilité de résistance à *F.p.* dans le dispositif QTL utilisé, ces données constituent un apport notable à la connaissance du système MH chez la truite, et plus généralement chez les poissons.

Bases moléculaires de la résistance : un genome-scan (210 marqueurs microsatellites et SNP) d'une famille haplo-diploïde de 282 descendants F2 a permis d'identifier plusieurs zones chromosomiques potentiellement impliquées dans la résistance. La co-localisation éventuelle de plusieurs gènes candidats fonctionnels avec les zones QTL identifiées a été testée. Dans le croisement étudié, seul le gène TAP-1 semble dans ce cas, l'intérêt potentiel des autres gènes testés identifiés dans la littérature ou à l'issue des analyses transcriptomique (CMH, divers senseurs et cytokines pro ou anti-inflammatoire) n'est pas confirmé.

Faisabilité d'une sélection pour la résistance à la bactérie : l'héritabilité de la résistance a été estimée dans une population domestique française, à partir d'un dispositif familial robuste et optimisé pour les caractères de survie. L'estimation obtenue est encourageante (0.25 ± 0.08 sur l'échelle observée et entre 0.50 ± 0.15 et 0.56 ± 0.18 pour la variable sous jacente). Des estimations encourageantes du progrès génétique potentiel ont été obtenues en simulant un dispositif compatible avec les schémas de sélection nationaux (structure familiale, effectif, coût de l'information généalogique, conditions de recueil des phénotypes).

Perspectives

Des outils de portée générale pour l'étude des interactions hôte-pathogènes chez la truite ont été établis (lignées de truite de résistance opposée, mutants bactériens, caractérisation des gènes MH chez la truite). Le bilan des analyses fonctionnelles permet d'établir un premier panorama de la réponse à l'infection et de ses composantes immunitaires chez la truite, et d'orienter de futures études.

L'analyse moléculaire et quantitative de la variabilité de la résistance confirme l'existence d'une variabilité génétique de la résistance dans les populations domestiques. Un progrès génétique substantiel paraît réalisable avec les dispositifs de sélection actuels. Les résultats ont été présentés aux professionnels, et un projet complémentaire associant sélectionneurs et recherche est en cours d'élaboration. L'intensification rapide des outils de génomique et de génotypage chez la truite doit permettre d'engager la cartographie fine des QTL primo-localisés, dans la perspective à terme de stratégies de type SAM.

Principales publications issues des travaux soutenus dans le cadre du projet ANR

Vandeputte M., Chapuis H., Dupont-Nivet M., 2009. Optimisation of factorial mating designs to estimate genetic parameters for threshold traits in DNA-pedigreed mixed families of fish. Xth International Symposium 'Genetics in Aquaculture', Bangkok, June, 22-26th, 2009 (affiche, résumé)

Michel C., Dechamp N., Hervet C., Quillet E., 2009. Bacterial isolate influences the susceptibility of clones of rainbow trout to *Flavobacterium psychrophilum* infection. 14th EAAP Conference: Diseases of fish and shellfish. Prague, September, 14-19th, 2009 (oral, résumé)

Duchaud E., 2009. Bacterial fish pathogens of the genus *Flavobacterium*: genomes, epidemiology and virulence, Centre Franco-Indien pour la recherche Avancée, Bhubaneswar, Inde (29 août - 1^{er} septembre 2009)

Duchaud E., 2009. Genomics of the genus *Flavobacterium*. 2nd Conference on members of the genus *Flavobacterium* 2009, Paris, September, 21-23th, 2009 (oral, résumé étendu)

Quillet E., Dechamp N., Hervet C., Michel C., 2009. Resistance to *Flavobacterium psychrophilum* in homozygous clones of rainbow trout: effects of host genotype and bacterium isolates. 2nd Conference on members of the genus *Flavobacterium* 2009, Paris, September, 21-23th, 2009 (oral, résumé étendu)

Duchaud E., 2009. Diversité génomique des espèces bactériennes du genre *Flavobacterium*. Colloque NGS "Evolution et biodiversité microbienne, impact du séquençage nouvelle génération" Institut Pasteur (7 décembre 2009)

- Chapuis H., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Haffray P., Quillet E., 2010. Selection for an improved disease resistance using factorial mating designs and molecular based pedigree in fish: a simulation study. 9th WCGALP (World Congress on Genetics Applied to Livestock Production), Leipzig, August 1-6th, 2010 (oral, résumé étendu)
- Duchaud E., 2010. Genomic diversity of *Flavobacterium* species. ISME13, Seattle, USA (August, 22-27th, 2010).
- Michel, C., Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., Dechamp, N., Quillet, E., 2011. Estimation of genetic parameters for resistance to *Flavobacterium psychrophilum* infection in a French domestic population of rainbow trout. 15th EAAP Conference: Diseases of fish and shellfish. Split (Croatie), 12-16 septembre 2011 (poster, résumé).
- Langevin C., Blanco M., M. Martin SAM., Jouneau L., Bernardet JF., Houel A., Lunazzi A., Duchaud E., Michel C., Quillet E., Boudinot P. Transcriptional responses of resistant and susceptible fish lines to the bacterial pathogen *Flavobacterium psychrophilum* (soumis)
- Franche N., Wu C-L., Gemrot E., Lefranc M-P., Laurens V., Quillet E., en préparation. Major Histocompatibility genes typing in homozygous clones of rainbow trout with different sensibility to *Flavobacterium psychrophilum* infection. Dépôt des sequences dans la banque EMBL.