



HAL
open science

Mise en place de la sélection génomique chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*

Antoine Jourdan

► **To cite this version:**

Antoine Jourdan. Mise en place de la sélection génomique chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Sciences agricoles. Université de La Rochelle, 2023. Français. NNT : 2023LAROS024 . tel-04507472

HAL Id: tel-04507472

<https://theses.hal.science/tel-04507472>

Submitted on 16 Mar 2024

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.



LA ROCHELLE UNIVERSITE

ÉCOLE DOCTORALE

N°618 - EUCLIDE

Laboratoire Unité Adaptation Santé des Invertébrés Marins, IFREMER

&

Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français (SYSAAF)

THÈSE

présentée par :

Antoine JOURDAN

soutenue le 13 Septembre 2023

pour l'obtention du grade de Docteur de La Rochelle Université

Discipline : Physiologie, biologie des organismes, populations, interactions

**Mise en place de la sélection génomique chez l'huître creuse
*Crassostrea gigas***

JURY :

Xavier ROGNON
Marc VANDEPUTTE
Hélène GILBERT
Pierre BOUDRY
Sylvie LAPEGUE
Delphine LALLIAS

Professeur, AgroParisTech, INRAE, Président du jury
Ingénieur de recherche, INRAE, Rapporteur
Directrice de recherche, Université de Toulouse, INRAE, Rapporteur
Directeur de recherche, Ifremer, Directeur de thèse
Directrice de recherche, Ifremer, Examinatrice
Chargée de recherche, AgroParisTech, INRAE, Examinatrice

Romain MORVEZEN
Lionel DEGREMONT
Florence PHOCAS

Chargé de projet, SYSAAF, Co-encadrant de thèse et Invité
Chercheur, Ifremer, Co-encadrant de thèse
Directrice de recherche, AgroParisTech, INRAE, Invitée



Il faut toujours connaître les limites du possible. Pas pour s'arrêter, mais pour tenter l'impossible dans les meilleures conditions.

Charge d'âme, Romain Gary

REMERCIEMENTS

On peut dire que cette thèse aura connu quelques péripéties, mais avec toutes les personnes pragmatiques, bienveillantes, rassurantes, attentives et aimantes qui m'ont entouré au cours de ces trois années +++, nous sommes tous ensemble parvenus à mener à bien ce long travail. Je ne garde réellement que de bons souvenirs, grâce à vous, même dans les moments qui ont pu être plus compliqués. Pour cela, je tiens sincèrement à tous vous remercier.

En premier lieu, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance envers les membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'accepter d'évaluer mon travail. Merci à **Hélène Gilbert** et **Marc Vandeputte** d'avoir lu ce manuscrit et de rapporter cette thèse. Merci aussi à **Xavier Rognon**, **Delphine Lallias** et **Sylvie Lapègue** d'avoir accepté de participer au jury en tant qu'examinateurs.

Je souhaite également remercier l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la MER (**IFREMER**) et bien entendu le Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français (**SYSAAF**) pour leur participation au financement de cette thèse.

Je souhaite adresser un très grand remerciement à l'ensemble des personnes de mon encadrement officiel et aussi non officiel mais pas moins proche et impliqué ! Tout d'abord, un grand merci à mon directeur de thèse **Pierre Boudry** pour avoir su te rendre disponible aux moments où il le fallait. J'ai eu beaucoup de chance de t'avoir eu à mes côtés, j'ai énormément appris de toi et grâce à toi. J'ai pu observer ton niveau d'exigence et de rigueur qui m'ont permis de m'améliorer et de grandir. Chaque discussion avec toi a été enrichissante, tant sur l'aspect scientifique que d'un point de vue professionnel et personnel. Je tiens à remercier très chaleureusement mon co-encadrant **Romain Morvezen** avec qui j'ai énormément apprécié travailler. Ta sensibilité et ton enthousiasme ont été des éléments moteurs pour le bon déroulement de cette thèse. J'espère que cette première expérience d'encadrement de thèse ne t'aura pas dégoûté, car de futurs thésards seraient très chanceux de travailler avec toi. J'ai aussi pu te voir évoluer au fil du temps, prendre de l'assurance et savoir prendre les bonnes décisions. Je ne peux que te souhaiter de continuer comme ça, car pour moi, ça a été d'une grande inspiration. J'ai évidemment une pensée amicale pour **Jean-Baptiste Lamy** qui m'a encadré pendant quelques mois en début de thèse mais qui a choisi de s'épanouir ailleurs. Sans aucun doute, j'ai quelques regrets de ne pas avoir pu travailler plus longtemps avec toi car cela m'aurait nourri, si j'étais de nature à ressasser le passé. Je suis donc infiniment reconnaissant envers mon co-encadrant **Lionel Dégrement** d'avoir pris la relève. Je me souviendrai longtemps des discussions que nous avons eues dans les couloirs du labo à partager tes connaissances mais aussi tes "exaspérations". Il est indéniable que sans tes conseils et ton amour du travail bien fait, je n'aurais pas pu obtenir des données d'aussi bonne qualité. Apprendre à tes côtés lors de l'élevage larvaire et en micronurserie aura été pour moi l'un des moments les plus agréables de cette thèse. Je pense que ton expertise est un atout pour le milieu ostréicole et j'espère que tu parviendras à réaliser l'ensemble de tes projets

Remerciements

en poursuivant la diffusion de ton travail avec le SYSAAF. Je remercie également les membres de mon comité de suivi de thèse, **François Allal** et **Pascale Leroy**, qui ont su m'aider à orienter mes objectifs et ont à chaque fois été prévenants et de bons conseils lorsque je les sollicitais. Je souhaite remercier tout particulièrement **Florence Phocas** qui occupe une place particulière dans cette thèse pour moi. Cela a été une grande chance que tu t'impliques autant dans mes recherches en étant toujours volontaire. Ta disponibilité, ton expérience, ta patience et tes conseils m'ont été utiles pour accomplir ce travail, et je te dois beaucoup !

Merci également à **Bénédicte Charrier**, responsable du site de la station Ifremer de La Tremblade, ainsi qu'à **Christian Béchemin** de m'avoir accueilli les deux premières années de ma thèse et plus particulièrement à **Isabelle Arzul**, responsable de l'unité **ASIM**, pour sa gentillesse et son écoute. **Florent, Marine** et bien sûr **Elise**, merci beaucoup pour l'ensemble et la qualité de votre travail fourni. Vous êtes restés constamment pleins d'énergie et d'enthousiasme tout au long du projet. Merci aussi à toi **Serge**, qui as toujours été à l'écoute, disponible et avec l'envie de bien faire les choses. Un grand merci à tout le reste du personnel de la station avec qui je garde de beaux souvenirs de partage (souvent autour d'un burger...). Il a été difficile pour moi de vous quitter.

Je réitère mes remerciements au **SYSAAF** et à ses directeurs successifs **Daniel Guémené** et **Michel Sourdioux**, sans qui toute cette thèse n'aurait pas été possible. Je voudrais souligner à quel point je suis reconnaissant de l'opportunité qui m'a été offerte d'apprendre et de développer mes connaissances dans un cadre idéal pour s'épanouir. Le site de Rennes a été un formidable point de chute et j'ai beaucoup apprécié la rapidité de réponse et la flexibilité offerte face aux diverses contraintes rencontrées. Merci à **Pierrick** de m'avoir accueilli sur le site et plus généralement pour l'ensemble de sa participation dans cette thèse, à travers les discussions, l'encadrement et ses nombreuses idées. Merci à **Pierre** de m'avoir accepté dans son bureau (ce n'était apparemment pas chose faite !). Merci à **Jonathan** pour ton soutien dans cette fin de thèse, c'était il n'y a pas si longtemps pour toi, tu dois t'en souvenir ! Plus généralement, merci à l'ensemble des **équipes avicole, aquacole** et **administrative** de m'avoir intégré et pour tous les bons moments partagés.

Merci également aux entreprises adhérentes au SYSAAF, **Vendée Naissin** et **SATMAR**, qui ont participé et rendu possible le projet Quality-Huître. Que ce soit pour la production d'huîtres ou pour le suivi des résultats de ma thèse, j'ai fortement apprécié votre implication. J'espère que ce travail servira à la sélection ostréicole française.

Je tiens à remercier les autres personnes ayant contribué de près ou de loin à l'ensemble de ce travail. Merci à **Jérôme Bugeon** pour ta pédagogie dans l'analyse d'image, merci à **Bruno Petton** d'avoir fourni du matériel biologique, merci aux **PMM de Bouin et La Tremblade** d'avoir parfaitement participé à l'élevage des huîtres, en particulier **Frédéric, Pascal, JC, Jean-Pierre** et **Virginie**.

Remerciements

Merci aux doctorants que j'ai eu la chance de rencontrer çà et là et qui nous permettent parfois de relativiser sur notre condition ou de trouver des alliés dans la critique. Alors merci à **Manon, Laury, Clément, "Garçon", Jérémy, Vike** et **Ajith**. Je ne peux bien sûr pas oublier de te remercier, **Camille** (sinon je me serais pris un "ooh !"), ni toi, **Nicolas** (partenaire de sessions sans traces blanches !), tellement vous avez été deux belles rencontres enrichissantes et apaisantes.

Merci à vous, les amis, **Benjamin, Pierre, Maureen, Valentin, Chloé, Antoine², Théo, Aurélien, Sophie, Emma, Corentin, Marie (K. et D.)** et encore plein d'autres, d'être toujours présents et d'accepter les « quelques » absences de nouvelles, ainsi qu'aux plus récents faisant partie des "**kooks LR**" ou des "**amoureux de LR**" (certainement la même personne qui a créé ces deux groupes...). Merci pour tous les messages ou appels (dédicace à toi, **Hugo**, qui m'a souvent sorti de ma torpeur pendant la rédaction pour parler de Van !), les retrouvailles, les escapades, les voyages. Tout cela m'a permis de m'échapper de temps en temps et de penser à autre chose qu'à mes huîtres, voire même de me retrouver dans l'incapacité physique de penser parfois...

Merci à ma famille, notamment à **mes parents**, merci de m'avoir permis d'en arriver jusqu'ici, merci pour votre soutien, merci pour vos encouragements incessants, merci pour tout le cadre, la stabilité, et merci pour l'exemple que vous donnez. Merci à **Mamie**, merci également à mes deux sœurs, **Anne-Laure** et **Adèle**, et merci au petit bout, **Léon**. Vous me permettez tout le temps de parler d'autres choses, parfois rudement, mais toujours plein de conviction ! Vous m'avez aidé à grandir et à me focaliser sur l'essentiel ! Merci aussi à la belle-famille qui a toujours été là pour moi et m'a toujours soutenu. Merci aussi à la « **Covidcolloc** », ce fut une période bien étrange, mais passée avec beaucoup de bonne humeur grâce à vous.

Enfin, merci à Nono la guimauve, à Dame Enora, à Nono la commissionneuse, à la blonde, bref, merci à toutes ces personnes qui n'en font qu'une, toi, **Enora**. Quoi qu'il faille bien autant de personnes pour réussir à me supporter dans mes contradictions ! Simplement merci d'être là, merci de me faire rire, de parler de tout et de rien, de croire en moi, de me faire évoluer (oui, c'est vrai, t'y arrives un peu). Alors ne change rien ! Surtout un grand merci d'avoir supporté cette très longue et envahissante parenthèse, j'ai hâte que le cours normal des choses puisse reprendre et de vivre plein de nouvelles aventures avec toi !

Je tiens finalement à remercier les personnes que j'aurais pu oublier et qui sauront me le rappeler !

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|-----------|
| REMERCIEMENTS..... | I |
| TABLE DES MATIERES..... | IV |
| LISTE DES FIGURES..... | VII |
| LISTE DES TABLEAUX..... | VIII |
| VALORISATION : COMMUNICATIONS ET PAPIERS..... | IX |
| Chapitre 1 Introduction générale..... | 1 |
| 1. L'ostréiculture..... | 2 |
| 1.1. <i>Origine et introduction de C. gigas en France.....</i> | <i>2</i> |
| 1.2. <i>La production d'huîtres.....</i> | <i>5</i> |
| 1.2.1. Importance économique..... | 5 |
| 1.2.2. Elevage des huîtres..... | 7 |
| 1.3. <i>Rôle du SYSAAF dans le développement de la filière ostréicole en France.....</i> | <i>12</i> |
| 2. Présentation de l'espèce étudiée <i>Crassostrea gigas</i> | 13 |
| 2.1. <i>Phylogénie.....</i> | <i>13</i> |
| 2.2. <i>Habitat.....</i> | <i>15</i> |
| 2.3. <i>Anatomie.....</i> | <i>16</i> |
| 2.4. <i>Développement et reproduction de l'huître creuse.....</i> | <i>18</i> |
| 2.4.1. Cycle de vie..... | 18 |
| 2.4.2. Reproduction..... | 19 |
| 2.5. <i>Mécanismes de défense.....</i> | <i>21</i> |
| 2.5.1. Des barrières physiques..... | 22 |
| 2.5.2. Une réponse immunitaire innée..... | 22 |
| 2.5.3. Immune priming (mémoire immunitaire)..... | 25 |
| 2.6. <i>Les menaces pour la production.....</i> | <i>26</i> |
| 2.6.1. Facteurs de risque pour la santé humaine..... | 26 |
| 2.6.2. Eléments néfastes pour les huîtres..... | 29 |
| 3. Amélioration génétique chez <i>C. gigas</i> | 46 |
| 3.1. <i>Génome.....</i> | <i>47</i> |
| 3.2. <i>L'édition du génome.....</i> | <i>49</i> |
| 3.3. <i>Polyploïdie.....</i> | <i>49</i> |
| 3.4. <i>Les différentes méthodes de sélection génétique.....</i> | <i>52</i> |
| 3.4.1. Les types de sélection..... | 55 |
| 3.4.2. Sélection génomique..... | 60 |
| 3.4.3. Architecture génomique..... | 62 |
| 3.5. <i>Objectifs de sélections.....</i> | <i>65</i> |
| 3.5.1. Croissance..... | 67 |
| 3.5.2. Qualité..... | 68 |

| | |
|---|------------|
| 3.5.3. Résistance aux maladies..... | 69 |
| 4. Objectifs et organisation de la thèse..... | 74 |
| Chapitre 2 Etude du potentiel de la sélection génomique pour l'amélioration de caractères de croissance et de qualité en populations commerciales chez <i>C. gigas</i> | 77 |
| 1. Avant-propos..... | 77 |
| 2. Article 1 : Potentiel de sélection génomique chez l'huître du Pacifique <i>Crassostrea gigas</i> en population commerciale | 81 |
| <i>Abstract</i> | 81 |
| <i>Highlights</i> | 82 |
| <i>Introduction</i> | 82 |
| <i>Materials and Methods</i> | 83 |
| <i>Results</i> | 87 |
| <i>Discussion</i> | 94 |
| <i>Conclusion</i> | 99 |
| <i>Acknowledgements</i> | 99 |
| <i>References</i> | 100 |
| 3. Conclusion/ouverture | 108 |
| 3.1. Progrès génétiques | 108 |
| 3.2. Effectif efficace | 111 |
| 3.3. Architecture génétique | 112 |
| Chapitre 3 Analyse des caractères de résistance aux maladies dans un contexte de coinfection par une bactérie et un virus chez <i>C. gigas</i> | 117 |
| 1. Avant-propos..... | 117 |
| 2. Article 2 : Analyse génomique de la résistance des huîtres du Pacifique <i>Crassostrea gigas</i> face à la coinfection par Ostreid Herpesvirus 1 et <i>Vibrio aestuarianus</i> | 121 |
| <i>Abstract</i> | 121 |
| <i>Highlights</i> | 122 |
| <i>Introduction</i> | 122 |
| <i>Materials and Methods</i> | 124 |
| <i>Results</i> | 128 |
| <i>Discussion</i> | 133 |
| <i>Conclusions</i> | 138 |
| <i>Acknowledgements</i> | 139 |
| <i>References</i> | 140 |
| 3. Conclusion/ouverture | 146 |
| 3.1. Estimation du gain phénotypique | 146 |
| 3.2. Exploration de scénarios d'indexation | 150 |

| | |
|---|------------|
| Chapitre 4 Discussion générale | 155 |
| 1. Résumé des principaux résultats..... | 156 |
| 1.1. Validation d'une puce SNP en populations commerciales ou expérimentales chez <i>C. gigas</i> | 156 |
| 1.2. Sélection génomique..... | 158 |
| 1.3. Détection de QTLs | 159 |
| 2. Développement et spécification des outils de génotypage | 160 |
| 2.1. Diminution du nombre de SNPs | 161 |
| 2.2. Augmentation du nombre de SNPs | 164 |
| 3. Application dans les programmes de sélection..... | 165 |
| 3.1. Nombre d'individus dans la population de référence | 165 |
| 3.2. Nombre de générations | 166 |
| 3.3. Gestion de la diversité génétique..... | 168 |
| 3.4. Résistance aux maladies | 170 |
| 3.4.1. Paramètres complémentaires | 170 |
| 3.4.2. Application dans les entreprises | 172 |
| 3.5. Développement d'outils collectifs | 175 |
| 4. Perspectives | 176 |
| 4.1. Interactions génotype × environnement..... | 176 |
| 4.2. Polyploïdie..... | 178 |
| 4.3. Développer des techniques précises de phénotypage..... | 179 |
| 5. Conclusions..... | 180 |
| REFERENCES (hors publications) | 183 |
| ANNEXES | 211 |
| Annexe 1: Procédure d'analyse d'image automatisé pour la forme et la couleur des valves chez l'huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> | 212 |
| Annexe 2: Carte de densité des 12 274 SNPs valides de la population expérimentale sur chaque chromosome. | 213 |
| Annexe 3: Présentation de la méthode de prédiction du poids de chair par IRM et estimation des paramètres génétiques. Poster présenté à l'ISGA XIV (2022). | 214 |
| Annexe 4: Matériels complémentaires chapitre 2, Article 1 | 215 |
| Annexe 5: Tableau présentant les résultats de mortalité (%) des familles testés au stade naissain par balnéation..... | 218 |
| Annexe 6: Matériels complémentaires chapitre 3, Article 2 | 219 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure 1: Historique de la production d’huître <i>Ostrea edulis</i> (vert), <i>Crassostrea angulata</i> (bleu) et <i>Crassostrea gigas</i> (rouge) en France. Les principaux agents pathogènes associés aux mortalités chez les huîtres adultes (grosses huîtres) ou aux juvéniles et naissains (petites huîtres) sont représentés en fonction de l’année de leur identification. Figure extraite de la thèse de (Lafont, 2017) | 4 |
| Figure 2: Histogramme des mortalités d’huîtres creuses <i>C. gigas</i> de 1972 à 2017 dans le bassin de Marennes-Oléron. Graphique produit par Dégremont avec les données issues de Héral (1989), Mille et al. (2016) et Ifremer (pas de données disponibles pour 1987, 1989, 1990 et 1992). | 5 |
| Figure 3: Production ostréicole des principaux pays producteurs, en termes de poids de production. Figure extraite de (Botta et al., 2020). | 6 |
| Figure 4: Volume et valeur des ventes d’huître creuse par région (2020) tiré de Agreste - Enquête aquaculture 2020 https://agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/disaron/Chd2116/detail/ | 7 |
| Figure 5: Cycle de production de <i>C. gigas</i> avec différentes méthodes de production. Figure extraite de (FAO - <i>Crassostrea gigas</i>) | 10 |
| Figure 6: Suivi de l’abondance moyenne du captage en France par secteur (naissain total par coupelle ou m ²). Figure extraite du rapport Ecoscopa 2021 (Fleury et al., 2022). | 12 |
| Figure 7: Classification taxinomique de l’huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> | 15 |
| Figure 8: Distribution mondiale de <i>C. gigas</i> , avec la zone d’origine indiquée en rouge et les régions où elle s’est établie en bleu. Carte extraite de la thèse de Pousse (2017) | 16 |
| Figure 9: Anatomie des principaux organes de l’huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> adulte sans sa valve droite et la partie droite du manteau. | 18 |
| Figure 10: Schéma du cycle de vie de l’huître creuse, distinguant une phase benthique et une phase pélagique. Figure extraite de la thèse de (Bagusche, 2013) | 19 |
| Figure 11: Triade épidémiologique adapté de Alfaro et al., 2019. | 33 |
| Figure 12: Expansion européenne de <i>V. aestuarianus francensis</i> d’après Mesnil et al. (2022) | 35 |
| Figure 13: Répartition mondiale d’OsHV-1 (Segarra, 2014) | 40 |
| Figure 14: Succession d’étapes d’une maladie polymicrobienne chez <i>Crassostrea gigas</i> induite par une infection primaire par OsHV-1 qui altère la physiologie des hémocytes puis est suivie d’une infection bactérienne secondaire qui entraîne la mort de l’huître. Figure extraite de Petton et al., 2021 | 46 |
| Figure 15 : Mortalité cumulée (%) moyenne des différents lots d’huîtres au cours de la première année d’élevage en Charente maritime en 2021 (A) et en Pays de la Loire en 2022 (B). Figure adaptée à partir des données du bilan 2021 de Charente Maritime (Barbier et al., 2021) et du bilan 2022 de Loire Atlantique (Glize et Morvant, 2023) du projet SIPEN | 72 |

Figure 16: Photos de deux individus (à gauche et à droite) avant (en haut) et après (en bas) le traitement d'image pour la normalisation. Les paramètres de couleur affichés correspondent à la mesure sur la mire grise de chaque photo. 79

Figure 17 : Effectif efficace (N_e) calculé à partir du déséquilibre de liaison moyenné par chromosome sur les 8 générations précédant les deux population étudiées..... 112

Figure 18: Comparaison des manhattan plot des caractères montrant une association significative avec des SNPs dans au moins une population (population 1 à gauche et population 2 à droite)..... 115

Figure 19: *Corrélation des valeurs génétiques estimées pour la résistance à la coinfection avec un modèle linéaire et avec un modèle à seuil* 146

Figure 20: Prédiction du taux de survie sur 10 générations de sélection en fonction du type de sélection (BLUP vs GBLUP) et pour deux populations, une issue de géniteurs d'origine sauvage et une incluant en plus les descendant des géniteur sélectionnés IFR. 149

Figure 21: Deux premiers axes d'une analyse en composante principale de l'ensemble des individus génotypés sur les 13K SNP. 150

Figure 22: Schéma des étapes de constitution du lot de candidats (lot dérivé) et de comparaison des différents index pour le gain génétique dans les trois conditions expérimentales (répété 50 fois). 152

Figure 23: Représentation des moyennes des GEBVs (Mean_EBV) pour la survie aux trois conditions expérimentales, des individus sélectionnés avec une pression de sélection de 10% et de l'intervalle de confiance à 95% pour les trois conditions et sous différents scénarios d'indexation. 153

Figure 24: Diagramme de Venn des SNPs retenu après filtration sur le logiciel AxAS dans les trois populations. 157

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Estimation du progrès génétique attendu (ΔG) et représentation en pourcent par rapport à la moyenne du phénotype ($\% \Delta G$) pour l'ensemble des caractères dans les deux populations avec soit un modèle BLUP soit un modèle GBLUP et une pression de sélection de 10%. 109

Tableau 2: Statistiques descriptives des QTL détectés pour les caractères croissance et de qualité en GWAS par approches GBLUP dans les deux populations étudiées (la ligne grisée révèle le seul QTL détecté dans la population 1). LG : groupe de liaison 114

VALORISATION : COMMUNICATIONS ET PAPIERS

Articles publiés ou soumis dans une revue à comité de lecture

Dégremont, L., Maurouard, E., **Jourdan, A.**, Lamy, J. B., & Boudry, P. (2022). SNP-based parentage analyses over two successive generations demonstrates the feasibility of efficient production of inbred lines in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) by self-fertilization of simultaneous hermaphrodites despite severe inbreeding depression. *Aquaculture*, 547, 737443. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737443>

Jourdan, A., Morvezen, R., Enez, F., Haffray, P., Lange, A., Vétois, E., Allal, F., Phocas, F., Bugeon, J., Dégremont, L., Boudry, P. (2023). Potential of genomic selection for growth, meat content and colour traits in mixed-family breeding designs for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 576, 739878. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739878>

Jourdan, A., Phocas, F., Boudry, P., Haffray, P., Allal, F., Maurouard, E., Heurtebise, S., Morga, B., Dégremont, L. & Morvezen, R. (*Under review*). Exploring genomic resistance to coinfection: single or dual pathogen infection by Ostreid Herpesvirus 1 and *Vibrio aestuarianus* in Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*. Special Issue: ‘*International Symposium on Genetics in Aquaculture XIV (ISGA XIV)*’

Communications orales

Jourdan, A., Morvezen, R., Lamy, J-B., Boudry, P. (mars 2020). Prédiction génomique chez l’huître creuse *Crassostrea gigas*. Journées Mollusques Marins et Conchyliculture d’Ifremer. Présentiel. Plougastel-Daoulas.

Jourdan, A., Morvezen, R., Dégremont, L., Phocas, F., Haffray, P., Lamy, J-B. & Boudry, P. (décembre 2020). Protocole pour l’analyse génomique de la résistance à deux agents pathogènes chez l’huître creuse *Crassostrea gigas*. 3^{èmes} Journées Techniques du SYSAAF. Présentiel. Rennes.

Jourdan, A., Morvezen, R., Dégremont, L., Phocas, F., Haffray, P., Lamy, J-B. & Boudry, P. (décembre 2020). Premiers résultats de sélection génomique de caractères qualitatifs chez l’huître creuse *Crassostrea gigas*. 3^{èmes} Journées Techniques du SYSAAF. Présentiel. Rennes.

Jourdan, A., Morvezen, R., Dégremont, L., Phocas, F., Haffray, P., Lamy, J-B. & Boudry, P. (octobre 2021). Premières avancées en sélection génomique de l’huître creuse et présentation du protocole du projet NewTechAqua. 4^{èmes} Journées Techniques du SYSAAF. En ligne.

Jourdan, A., Morvezen, R., Dégremont, L., Haffray, P., Phocas, F., Allal, F., Boudry, P. (octobre 2022). Sélection génomique pour des caractères de croissance et de qualité chez l’huître creuse. 5^{èmes} Journées Techniques du SYSAAF. Présentiel. Rennes.

Jourdan, A., Morvezen, R., Dégremont, L., Haffray, P., Phocas, F., Allal, F., Boudry, P. (octobre 2022). Premiers éléments de paramètres génétiques de la résistance à une co-infection à deux pathogènes chez l’huître. 5^{èmes} Journées Techniques du SYSAAF. Présentiel. Rennes.

- Jourdan, A.,** Morvezen, R., Phocas, F., Allal, F., Haffray, P., Boudry, P., Dégremont, L. (may 2022). Genomic Parameter and response to herpes, vibrio and dual infection challenges in Pacific oyster. NewTechAqua project General Assembly. In person. Oslo.
- Jourdan, A.,** Boudry, P., Enez, F., Haffray, P., Chenier, F., Vetois, E., Allal, F., Leroy, P., Phocas, F., Bugeon, J., Degremont, L., Morvezen, R. (July 2022). Implementation of genomic selection on production and quality traits and linkage disequilibrium in *Crassostrea gigas*. 12th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. In person. Rotterdam.
- Jourdan, A.,** Morvezen, R., Phocas, F., Allal, F., Maurouard, E., Heurtebise, S., Haffray, P., Boudry, P., Dégremont, L. (decembre 2022). Genome-wide association and genomic selection for single and dual disease resistance in *crassostrea gigas*. International Symposium on Genetics in Aquaculture XIV. In person. Puerto Varas, Chile.

Posters

- Jourdan, A.,** Bugeon, J., Lamy, J-B., Enez, F., Dégremont, L., Boudry, P., Haffray, P., Chenier, F., Vetois, E., Morvezen, R. (octobre 2021). An image analysis pipeline for molluscs shells phenotyping: development and validation on the pacific oyster *Crassostrea gigas*. European Aquaculture Society. Madeira.
- Morvezen, R., Collewet, G., **Jourdan, A.,** Enez, F., Chenier, F., Haffray, P., Quellec, S. (decembre 2022). MRI for the prediction of meat yield in breeding programs of the cupped oyster *Crassostrea gigas*. International Symposium on Genetics in Aquaculture XIV. In person. Puerto Varas, Chile.

Chapitre 1

Introduction générale

Dans cette thèse, le développement de la sélection génomique chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* en France est abordé. Le contexte de l'étude est présenté en trois parties dans l'introduction générale.

La première partie se concentre sur l'ostréiculture dans son ensemble. L'ostréiculture française d'hier et d'aujourd'hui est explorée en soulignant l'importance économique de cette activité, et les différentes méthodes d'élevage des huîtres sont évoquées. De plus, le rôle du SYSAAF dans le développement et le soutien de la filière ostréicole est mis en lumière.

La deuxième partie se concentre sur une exploration détaillée de l'espèce étudiée, *C. gigas*. La biologie de l'huître est examinée en profondeur, en étudiant son développement, sa nutrition, sa respiration, sa reproduction et ses mécanismes de défense. De plus, l'impact des éléments environnementaux sur l'élevage des huîtres est analysé, en prenant en compte les facteurs abiotiques tels que la température, la salinité, la turbidité et les polluants, ainsi que les facteurs biotiques tels que le phytoplancton, les algues toxiques et les agents pathogènes. Cette approche globale permet de mieux comprendre comment ces différents éléments influencent la croissance, la survie et la santé des huîtres *C. gigas*.

La troisième partie se concentre sur l'amélioration génétique chez *C. gigas*. Le génome de l'huître creuse est abordé, puis la polyploidie et l'édition du génome sont discutées comme méthodes d'amélioration génétique. Ensuite, les principes de la génétique quantitative sont expliqués et les différentes méthodes de sélection génétique qui ont conduit à la sélection génomique sont développées. Tout cela souligne l'importance de cette approche pour optimiser la production en fonction des objectifs de sélection telles que la qualité, la croissance et la résistance aux maladies.

Cette thèse s'est donnée pour objectif de déterminer la faisabilité de l'intégration de la sélection génomique dans les programmes de sélections ostréicoles en cours, en se concentrant sur des caractères d'intérêt spécifiques. En examinant l'architecture génétique de ces caractères à travers la détection de QTL et en évaluant les gains génétiques potentiels, nous avons exploré des perspectives et des possibilités d'amélioration afin d'appliquer efficacement la sélection génomique dans ce domaine. En atteignant ces objectifs, cette thèse vise à fournir des informations précieuses pour les entreprises de sélection afin de favoriser le développement de l'ostréiculture et d'améliorer la performance des élevages d'huîtres creuses en France.

1. L'ostréiculture

1.1. Origine et introduction de *C. gigas* en France

L'histoire de la consommation d'huîtres en Europe remonte à la préhistoire avec des traces d'utilisation comme nourriture depuis environ 400 000 ans et l'application à des fins ornementales et symboliques qui remonte à environ 30 000 ans (Bailey & Milner, 2008 ; Colonese et al., 2011). Les grecs et les romains étaient eux aussi des consommateurs assidus d'huîtres et ont même commencé à mettre en place des transferts d'huîtres vers des sites pour une meilleure croissance (Marzano, 2013). En France, c'est l'huître endémique *Ostrea edulis* (l'huître plate européenne) qui est consommée et particulièrement prisée pendant le moyen-âge et la renaissance. C'est au XVII^{ème} siècle que la culture des huîtres s'est développée sur la côte atlantique. Le naissain sauvage est récolté puis mis en croissance dans des claires. Mais au XVIII^{ème} siècle, la pêche intensive dans les principales zones d'approvisionnement comme Cancale a rapidement entraîné des signes de surexploitation. C'est pour cela que les premières ordonnances ont été mises en place pour protéger les gisements naturels (Deslous-Paoli and Héral, 1991). Malheureusement, avec le développement des lignes de chemin de fer au cours du XIX^{ème} siècle, et la possibilité de développer le marché ostréicole, les menaces d'épuisement des stocks se font sentir dans certaines régions (Héral, 1989). Pour remédier à cette situation, des travaux de collecte de naissain d'huîtres ont été lancés entre 1853 et 1859 par De Bon et Coste, dans le but d'élever des huîtres. Cela marque le début de l'ostréiculture moderne telle que nous la connaissons aujourd'hui (Buestel et al., 2009). C'est aussi à ce

moment-là qu'apparaît un tournant majeur dans l'exploitation du domaine public maritime avec une loi en 1852 qui permettait aux ostréiculteurs de louer des surfaces, c'est l'apparition des concessions. Au même moment, Napoléon III autorise l'importation de l'huître portugaise, *Crassostrea angulata*, dans le bassin d'Arcachon pour soulager les populations d'huîtres plates. Lors d'un voyage, le navire « Le Morlaisien », bloqué dans l'estuaire de Gironde, vida sa cargaison d'huîtres à l'eau pour la maintenir vivante. Après cet incident, certaines huîtres ont réussi à s'acclimater et se reproduire dans leur nouvel environnement et ont ainsi pu s'implanter tout le long de la côte atlantique française. Les deux espèces, *O. edulis* et *C. angulata*, ont alors été retrouvées le long des côtes françaises (Gouletquer and Héral, 1997). Au début du XX^{ème} siècle, des mortalités massives et inexplicables d'huîtres plates ont été signalées dans toute l'Europe, entraînant un effondrement des populations sur l'ensemble du littoral français. Dans les années 1920, puis à la fin des années 1960, deux maladies liées aux parasites *Marteilia refringens* et *Bonamia ostreae* ont fait chuter l'ensemble de la production et notamment sur les côtes bretonnes (Pouvreau et al., 2023). Pour pallier cette perte, les entreprises ostréicoles sont parvenues à remplacer la production d'huîtres plates grâce à la production d'huîtres portugaises qui devient l'espèce la plus produite sur les côtes atlantiques (bassins d'Arcachon, de Marennes-Oléron et côtes bretonnes). Entre 1967 et 1970, l'huître portugaise est affectée par deux épizooties, toutes deux attribuées à un virus de type iridovirus et caractérisées par des lésions des branchies et l'invasion du tissu conjonctif par les cellules sanguines (Figure 1). Ces symptômes accompagnés de mortalités extrêmes au cours des années 1970-1973 ont entraîné la quasi disparition de l'huître portugaise des côtes françaises (Comps, 1988). Près de 5 000 ostréiculteurs ont été touchés et la perte économique a été estimée à plus de 8,3 millions d'euros avec une perte annuelle de 60 000 tonnes (Grizel and Héral, 1991). Pour remédier à cette perte, au début des années 1970, l'huître creuse du Pacifique (*Crassostrea gigas*), aussi appelé huître japonaise, a été intentionnellement introduite en France. Entre 1971 et 1975 l'opération « Resur » a permis d'introduire de Colombie Britannique (Canada) 562 tonnes d'huîtres adultes dans les principales zones de productions. Simultanément une autre opération d'introduction a eu lieu entre 1971 et 1977 pour importer des huîtres du Japon. Au total cela représentait 10 015 tonnes de naissains soit une estimation à plus de 5 milliard d'individus (Grizel and Héral, 1991). L'huître creuse du Pacifique s'est très bien adaptée à son nouvel environnement puis elle s'est répandue sur l'ensemble des côtes. D'après les études

menées sur les populations d'huîtres en France, il a été constaté que la structure génétique de ces populations ne présentait pas de différence significative avec celle de la population source au Japon et qu'aucune perte de diversité génétique n'a été observée (Gagnaire et al., 2018 ; Lapègue et al., 2020 ; Rohfritsch et al., 2013). Même si on observe aujourd'hui un regain d'intérêt pour l'élevage de l'huître plate, principalement en Bretagne, l'ostréiculture française est dominée par la production de l'huître du Pacifique, bien que cette dernière soit également confrontée à des épizooties successives. Depuis l'introduction de *C. gigas* en France, des taux élevés de mortalités (agents pathogènes et autres), en particulier pour le naissain (Héral, 1989), ont toujours été observés, mais ils ont augmenté depuis 2008, passant en moyenne par exemple dans le bassin de Marennes-Oléron de 46% avant à 72% après cette date (Figure 2).

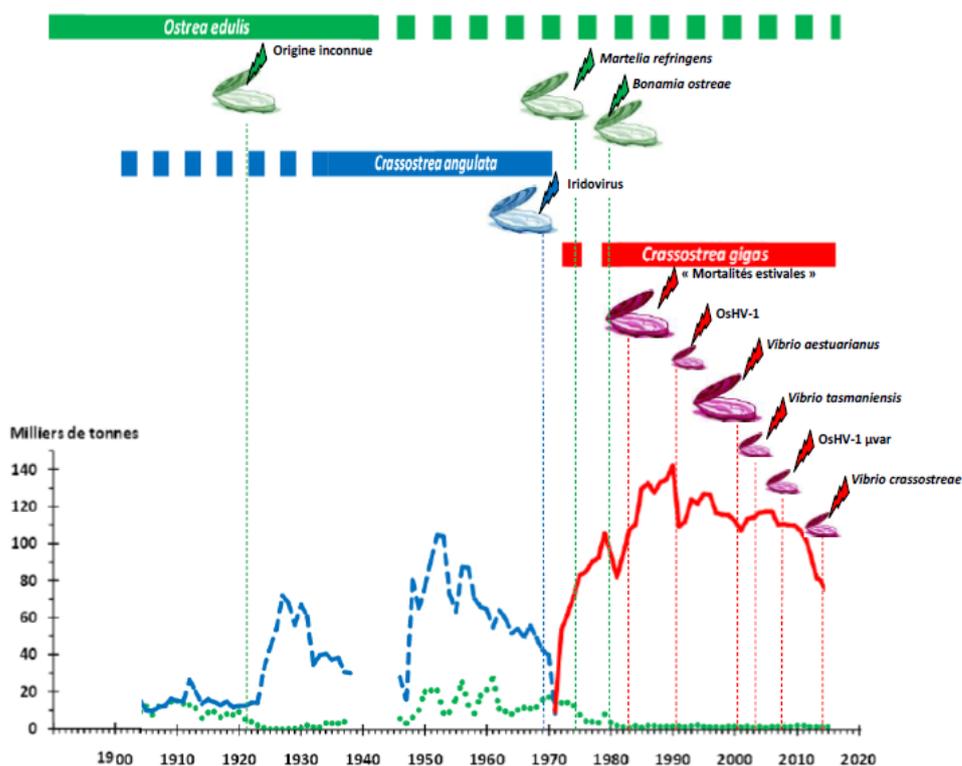


Figure 1: Historique de la production d'huître *Ostrea edulis* (vert), *Crassostrea angulata* (bleu) et *Crassostrea gigas* (rouge) en France. Les principaux agents pathogènes associés aux mortalités chez les huîtres adultes (grosses huîtres) ou aux juvéniles et naissains (petites huîtres) sont représentés en fonction de l'année de leur identification. Figure extraite de la thèse de (Lafont, 2017)

Ainsi, l'histoire de l'ostréiculture en France est marquée par une évolution constante au fil des siècles, de la pêche intensive à la collecte de naissain, à l'introduction de nouvelles espèces et à la maîtrise de l'élevage. Cette activité a été structurée avec des nouvelles techniques de productions ainsi qu'une logistique et des normes strictes pour garantir la qualité des huîtres produites. Malgré les défis auxquels elle a été confrontée, l'ostréiculture continue d'être une activité économique importante en France, exportant des quantités importantes d'huîtres à travers le monde et avec des centaines de producteurs et des milliers d'emplois créés chaque année.

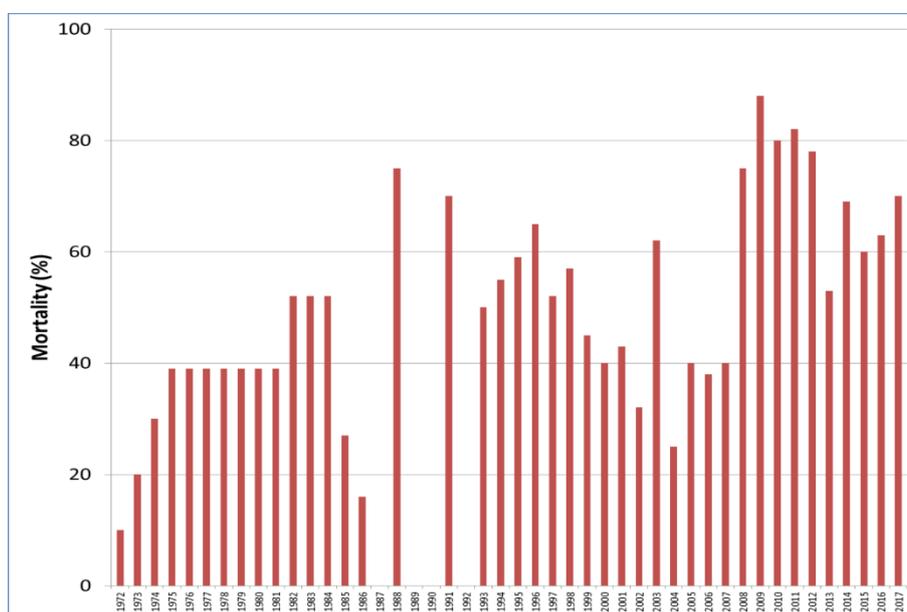


Figure 2: Histogramme des mortalités d'huîtres creuses *C. gigas* de 1972 à 2017 dans le bassin de Marennes-Oléron. Graphique produit par Dégremont avec les données issues de Héral (1989), Mille et al. (2016) et Ifremer (pas de données disponibles pour 1987, 1989, 1990 et 1992).

1.2. La production d'huîtres

1.2.1. Importance économique

A l'échelle mondiale, l'aquaculture des mollusques est une industrie en croissance rapide et représente 14,5 % de la production aquacole mondiale en poids en 2020 avec environ 17,7 millions de tonnes, ce qui en fait l'un des groupes les plus importants de l'aquaculture (FAO, 2022). Les huîtres sont le groupe taxonomique le plus important en termes de volume produit

chaque année, représentant 34,1 % du volume total de mollusques produits en 2020 (soit 6,1 millions de tonnes), avec l'huître du Pacifique en tant que principal acteur de l'industrie. Jusque dans les années 1950, la France était le plus grand producteur ostréicole du monde (Botta et al., 2020) (Figure 3). Cependant, la Chine est aujourd'hui le pays leader, avec 85% de la production mondiale d'huîtres (FAO, 2022). La France est maintenant le cinquième producteur mondial d'huîtres, et le quatrième pour l'huître du Pacifique, après d'autres pays comme la Corée du Sud, le Japon et les États-Unis d'Amérique (FAO, 2022).

Au niveau de l'Union Européenne, La France occupe une position de leader en terme de production de mollusques, réalisant la moitié du chiffre d'affaires et un quart du volume de la production totale. Elle est notamment le premier producteur d'huîtres en Europe, avec une part de marché de 88 % de la production totale (Agreste, 2020).

En France, en 2020, la production de mollusques a atteint 144 000 tonnes, principalement composée d'huîtres (81 000 tonnes) et de moules (61 000 tonnes), générant un chiffre d'affaires de 508 millions d'euros, hors éclosion-nurserie (Agreste, 2020). La conchyliculture dans son ensemble y est un secteur industriel important qui regroupe 2500 entreprises et permet l'emploi de 16 000 personnes dans 7 régions de production : Normandie, Mer du Nord, Bretagne Nord, Bretagne Sud, Pays de la Loire, Poitou-Charentes, Aquitaine et Méditerranée. En termes de ventes au consommateur final, la Charente-Maritime est la principale région productrice, représentant près de la moitié de la valeur de production (Figure 4).

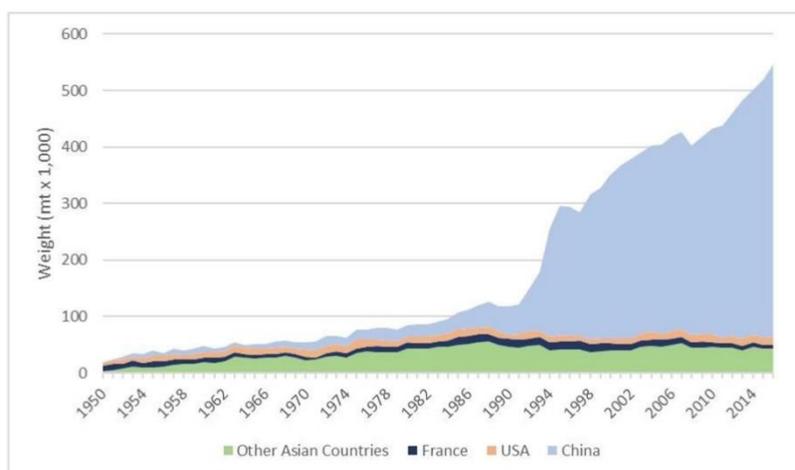


Figure 3: Production ostréicole des principaux pays producteurs, en termes de poids de production. Figure extraite de (Botta et al., 2020).

| | Volume (tonne) | Valeur (millions d'euros) | Prix (EUR/kg) | % du volume total | % de la valeur totale |
|-------------------------|----------------|---------------------------|---------------|-------------------|-----------------------|
| Charente-Maritime | 35.646 | 170.066 | 4,8 | 44% | 48% |
| Bretagne Nord | 10.514 | 42.034 | 4 | 13% | 12% |
| Normandie - Mer du Nord | 9.736 | 36.441 | 3,7 | 12% | 10% |
| Bretagne Sud | 9.158 | 40.087 | 4,4 | 11% | 11% |
| Pays de la Loire | 6.350 | 25.646 | 4 | 8% | 7% |
| Arcachon-Aquitaine | 4.433 | 21.896 | 4,9 | 5% | 6% |
| Méditerranée | 4.944 | 20.825 | 4,2 | 6% | 6% |
| Total | 80.783 | 356.985 | 4,4 | 100% | 100% |



Figure 4: Volume et valeur des ventes d'huître creuse par région (2020) tiré de Agreste - Enquête aquaculture 2020 <https://agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/disaron/Chd2116/detail/>

Malgré les améliorations techniques dans l'élevage et la production, le secteur ostréicole connaît actuellement une stabilité avec une production d'huîtres du Pacifique qui se maintient au même niveau depuis le début des années 2010 (FAO, 2022), sans jamais atteindre les niveaux de production des années 90 qui étaient de 130 000 tonnes.

L'ostréiculture française a dû faire face dans le passé à des crises avec d'autres espèces dont la production est aujourd'hui faible (huître plate) ou totalement disparue (huître portugaise) et la production d'huître du Pacifique y fait face elle aussi à son tour. Des épizooties successives (vibrioses, herpesvirus ; (Garnier et al., 2007 ; Lacoste et al., 2001 ; Segarra et al., 2014b)), ainsi que des dégradations des conditions environnementales (voir Chapitre 1, section 2.6), ont induit d'importantes perturbations dans les différentes zones de production.

1.2.2. Elevage des huîtres

1.2.2.1. Techniques d'élevage

L'huître creuse réussit à s'installer et à s'adapter dans des environnements très variables (Hansen et al., 2023). Ainsi, elle peut être cultivée dans de nombreuses régions présentant des conditions environnementales très variées qui comportent toutes leurs spécificités biotiques et abiotiques (voir Chapitre 1, section 2.2). Il a donc fallu adapter, en conséquence, les techniques d'élevage. En France, l'ostréiculture emploie trois principales méthodes (Buestel et al., 2009) :

- La culture sur le fond (à plat) où le naissain est semé dans des zones intertidales ou subtidales (parfois en cage en eau profonde). Cela a l'avantage de ne pas nécessiter d'autres étapes d'élevage. Les huîtres seront alors ramassées à la drague ou à la main.
- La culture en surélevé où le naissain est placé dans des poches à mailles, lesquelles sont attachées à des tables en bois ou en acier dans les zones intertidales. C'est la méthode de culture la plus répandue (> 80% de la production ; Agreste, 2020) même si cela nécessite des étapes d'élevage supplémentaires où l'ostréiculteur doit changer/retourner régulièrement les poches afin que toutes les huîtres puissent croître dans de bonnes conditions et avec une forme régulière.
- La culture en suspension où le naissain peut être fixé à des cordes, principalement utilisée en Méditerranée dû à l'absence de marée, ou suspendus verticalement à des lignes de paniers à mailles (type panier australien), ou encore dans des cages flottantes. Cette méthode a l'avantage de nécessiter moins de main-d'œuvre que la culture en surélevé en poche de par l'influence de la houle et de l'environnement sur les suspensions et permet une meilleure croissance qu'en zone intertidale.

Historiquement, la culture d'huîtres en France présente une organisation qui implique le transfert des animaux depuis les bassins de captage, principalement situés à Arcachon et à Marennes-Oléron, vers des sites d'élevage et d'affinage. Les autres sites d'élevage peuvent obtenir du naissain de captage à partir de ces deux régions ou du naissain produit en éclosier (voir Chapitre 1, section 1.2.2.2). Le naissain est ensuite élevé dans les sites de captage ou transféré vers d'autres sites d'élevage en France, tels que la Normandie, la Bretagne, les Pays de la Loire et la Méditerranée. Il est également possible et courant de transférer des huîtres entre différents sites d'élevage pendant la période d'élevage. Les huîtres sont commercialisées à différents calibres allant du 0 (10/11 cm) au 5 (5/6 cm) pour des poids allant de 30g à plus de 150g et à un âge de 2-3 ans. Parfois, les huîtres adultes sont soumises à un processus d'affinage pour modifier leur taille, leur couleur ou leur goût. Cette pratique peut impliquer la mise en place d'huîtres dans des bassins d'affinage, tels que des claires, où la concentration d'iode a tendance à diminuer. Les caractéristiques de l'environnement et culturel local ont donc une forte influence sur les pratiques d'ostréiculture et d'autres éléments peuvent aussi varier comme l'approvisionnement en naissain.

1.2.2.2. Approvisionnement en naissain

1.2.2.2.1 Captage naturel

En France, comme évoqué précédemment, la technique du captage a été largement diffusée grâce aux études de Coste et De Bon en 1855, et l'apparition des premières concessions conchylicoles a permis le développement de l'ostréiculture moderne. Les techniques de captage ont évolué au fil du temps, dans l'idée de fournir aux larves d'huîtres un support de fixation pendant l'été (Héral & Deslous-Paoli, 1991) (Figure 5). Différents supports ont été utilisés, tels que des collecteurs en bois, des cordées de coquilles d'huîtres, des barres de fer ou des tuiles chaulées ou plus récemment des collecteurs en plastique comme des coupelles ou des tubes. Six à dix-huit mois après la fixation, les huîtres sont détachées ("détriquées") de ces supports et transférées dans les zones de production.

Même si le captage naturel est une méthode d'approvisionnement largement utilisée et peu coûteuse, cela reste une activité difficile qui nécessite de concilier des contraintes techniques et environnementales (Toulhoat, 2008). Les contraintes techniques incluent par exemple la date et l'amplitude des malines, la hauteur des parcs de captage, le nombre de collecteurs à poser, le fouling ou la turbidité de l'eau susceptible de salir les collecteurs. Les contraintes environnementales comprennent les tempêtes qui provoquent des pertes de naissain ou peuvent être liées à la variabilité de la reproduction de l'huître, ce qui peut entraîner une faible abondance ou au contraire une surdensité de naissain sur les collecteurs. La filière peut également faire face à des années sans captage, qui peuvent se renouveler dans certaines régions (Figure 6).

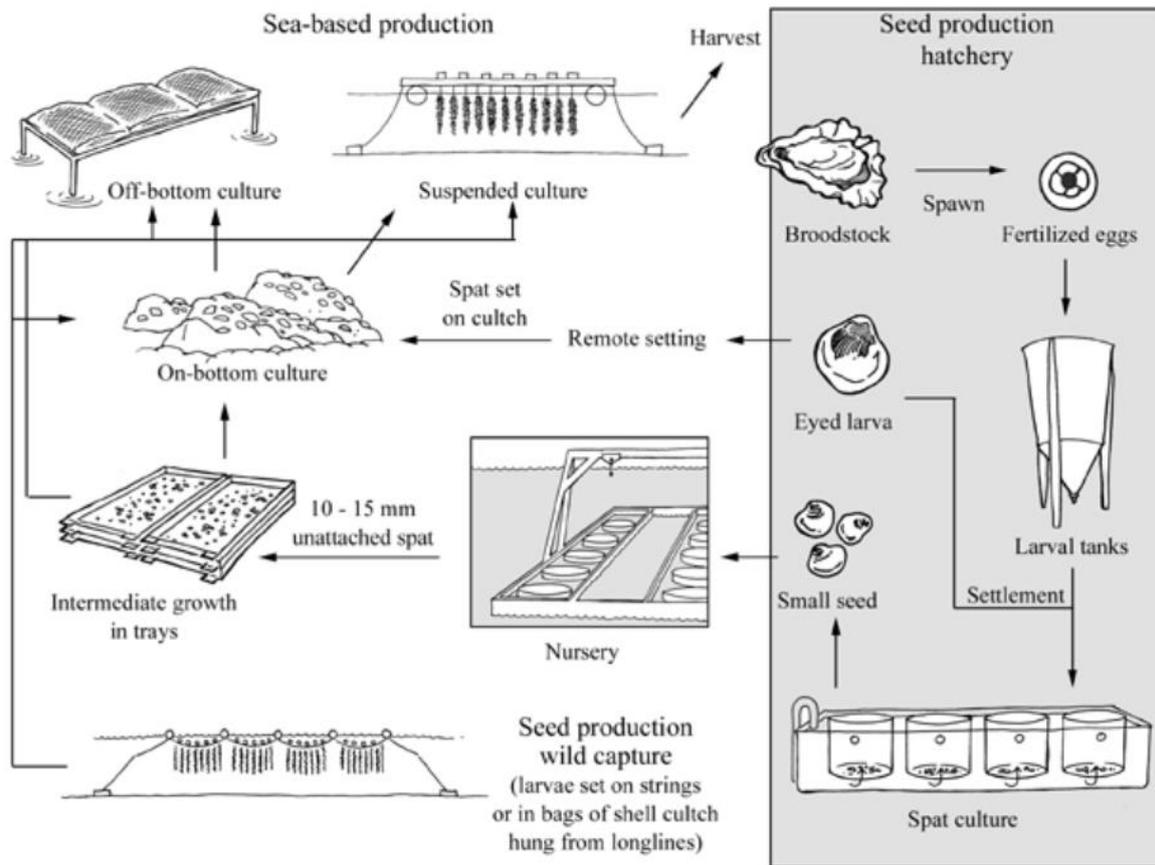


Figure 5: Cycle de production de *C. gigas* avec différentes méthodes de production. Figure extraite de (FAO - *Crassostrea gigas*)

1.2.2.2.2 Naissain d'écloserie

Figure 5: Cycle de production de *C. gigas* avec différentes méthodes de production. Figure extraite de (FAO - *Crassostrea gigas*)

Les avancées scientifiques significatives dans l'élevage des mollusques bivalves au cours du siècle dernier, notamment l'optimisation de l'alimentation, les protocoles de reproduction et l'élevage des larves (Bayne, 1965 ; Carriker, 1956 ; Galtsoff, 1938 ; Loosanoff and Davis, 1963), ont conduit à la création des premières écloséries commerciales de mollusques bivalves (Héral and Deslous-Paoli, 1991 ; Mann, 1983), notamment la SATMAR en 1972 en France. Grâce à la capacité de contrôler les conditions environnementales dans les installations à terre, il est possible de produire du naissain presque toute l'année (Figure 5). Cette source d'approvisionnement potentiellement plus fiable de naissain permet un développement de la production ostréicole et facilite la possibilité d'une amélioration génétique (voir Chapitre 1 section 3), ce qui permet des opportunités et différentes alternatives pour ce secteur. Le

développement de cette filière d'écloserie et les progrès scientifiques ont également permis la diffusion de naissain triploïde depuis la fin des années 90 qui offrent de nombreux avantages (section 3.3).

L'approvisionnement en naissain issu d'écloserie présentant des avantages et des inconvénients, sa part reste minoritaire en France, avec 33% de l'approvisionnement (25% pour le naissain triploïde et 8% pour le diploïde), alors que 57% provient du captage naturel, le reste étant d'origines diverses ou inconnues (Agreste, 2020). En 2021 près de 3 milliards de naissains ont été produits par les écloseries et nurseries. Bien qu'une certaine indépendance d'une partie des ostréiculteurs soit revendiquée vis-à-vis des écloseries, celles-ci sont de plus en plus intégrées dans la structure de la filière ostréicole française. La pérennité des écloseries témoigne de la forte demande en naissains de la part d'une grande partie de la filière ostréicole.

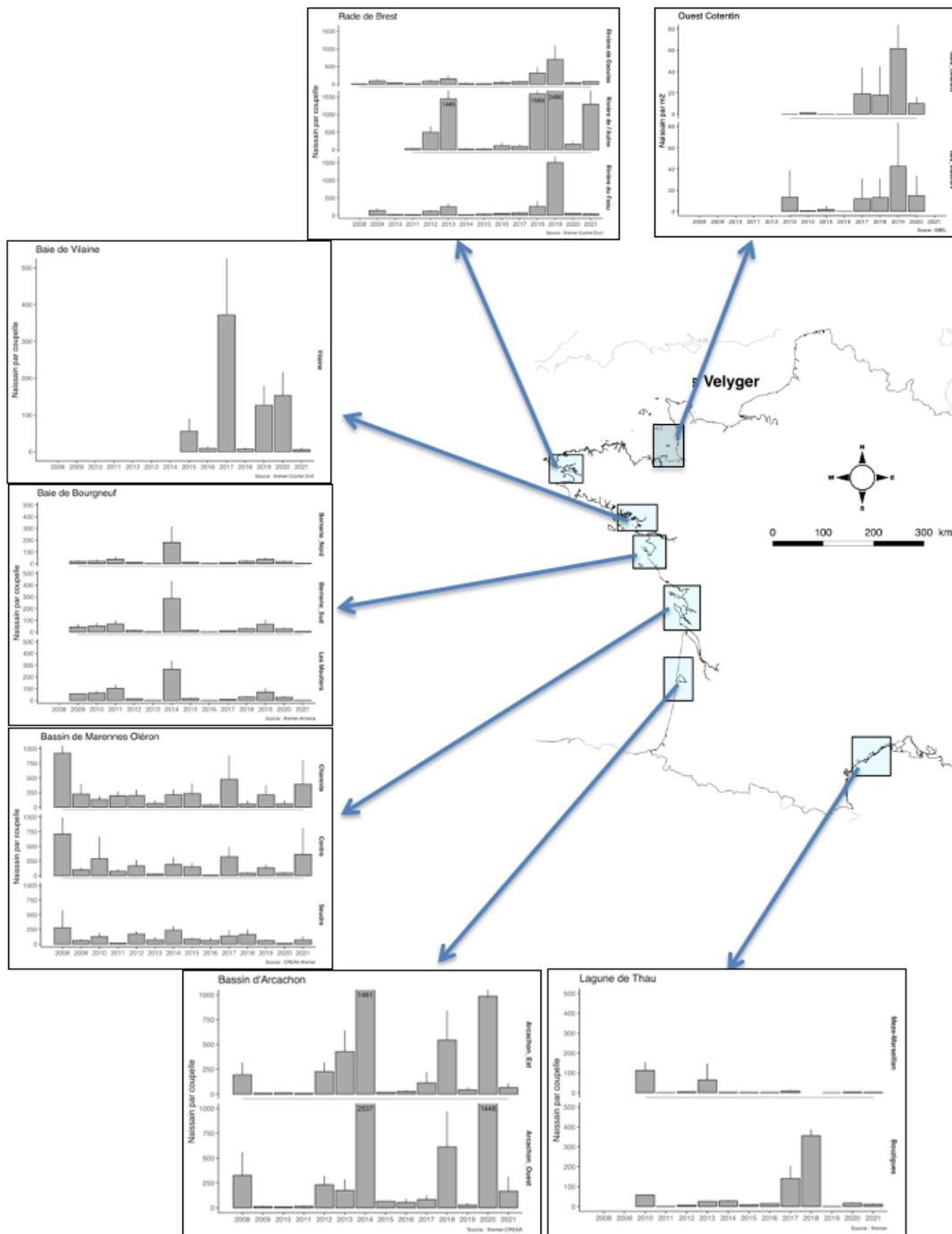


Figure 6: Suivi de l'abondance moyenne du captage en France par secteur (naissain total par coupelle ou m2). Figure extraite du rapport Ecoscopa 2021 (Fleury et al., 2022).

1.3. Rôle du SYSAAF dans le développement de la filière ostréicole en France

Bien que la proportion de naissains provenant d'écloseries soit minoritaire en France relativement au naissain sauvage, certaines entreprises figurent parmi les plus importantes au niveau européen et mondial dans la production de naissains. France Naissain, Satmar,

Marinove et Novostrea sont parmi les principales écloseries en France, produisant en grande majorité du naissain pour la France. C'est en 2001, en concertation avec les écloseries de mollusques et de coquillages que le SYSAAF (SYndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français) élargit son champ d'activité avec plusieurs espèces conchyliques (<https://www.sysaaf.fr>). Aujourd'hui, ces quatre entreprises sont adhérentes au SYSAAF qui assure un appui technique à la mise en œuvre de programmes de sélection génétique. Cela comprend le soutien à la création de méthodes et de systèmes de sélection adaptés, qui garantissent une gestion efficace de la diversité génétique et permettent l'évaluation génétique des animaux reproducteurs candidats. Cela facilite ensuite la sélection et la mise en place de plans d'accouplement spécifiques selon les objectifs des sélectionneurs.

En France, le SYSAAF fait aussi l'intermédiaire entre différents organismes de recherche nationaux (notamment Ifremer et INRAE) et les sélectionneurs. Il est impliqué dans de nombreux programmes de recherches qui ont permis le transfert des connaissances du secteur de la recherche vers le secteur professionnel et ainsi faciliter la mise en place de méthodes de sélection plus efficaces dans des programmes de sélection avicole, aquacole mais aussi plus récemment entomocole. Grâce à sa position privilégiée à l'interface de la recherche et des écloseries d'huîtres, ainsi que de solides connaissances acquises à travers des programmes de sélection de diverses espèces, le SYSAAF a pu suggérer d'explorer la faisabilité de la mise en œuvre de la sélection génomique pour l'huître creuse *C. gigas* via le montage et la coordination du projet FEAMP Quality-Huitre, ainsi que la participation au projet européen NewTechAqua, dont découlent les résultats acquis dans cette thèse.

2. Présentation de l'espèce étudiée *Crassostrea gigas*

2.1. Phylogénie

L'huître creuse *Crassostrea gigas* (Thunberg 1973) est un mollusque bilatérien protostomien. Elle possède une symétrie bilatérale et son blastopore se développe en premier pour devenir la bouche puis l'anus, à l'inverse des deutérostomiens dont font partie les vertébrés. Deux groupes composent les protostomiens, les ecdysozoaires représentés majoritairement par les 1 200 000 espèces d'arthropodes et les lophotrochozoaires composés notamment des

plathelminthes, annélides, brachiopodes et des mollusques qui sont majoritaires avec plus de 120 000 espèces différentes (<https://www.molluscabase.org>). Ces espèces appartiennent à ce clade puisqu'elles ont une forme larvaire spécialisée appelée trochophore capable de nager librement grâce à des cils. Les mollusques sont composés de 7 classes comprenant les aplacophores, les monoplacophores, les polyplacophores (chitons), les scaphopodes, les gastéropodes (escargot, limaces, bigorneaux, bulots, ormeaux, patelles...), les céphalopodes (calmars, poulpes) et enfin les bivalves.

Crassostrea gigas appartient à la classe des bivalves, à la sous-classe des pteriomorphes qui réunit les amandes de mer, les pétoncles, les Saint-Jacques, les moules et les huîtres. Elle fait partie de l'ordre des Ostreida et de la famille des Ostreidea. Cette famille est dominée par trois genres : *Ostrea* qui comporte notamment l'huître plate endémique en Europe *Ostrea edulis*, *Saccostrea* avec par exemple une espèce d'huître endémique d'Australie et de Nouvelle-Zélande *Saccostrea glomerata*, et enfin *Crassostrea* avec notamment l'huître creuse. Deux études récentes ont cependant remis en cause la taxonomie de *C. gigas* en se basant sur des analyses d'ADN nucléaire et mitochondrial (Salvi et al., 2014 ; Salvi and Mariottini, 2017). La principale conséquence a été de proposer de diviser en trois le genre *Crassostrea*, de créer un nouveau genre et donc de renommer l'huître creuse du Pacifique *Magallana gigas*. Une controverse scientifique a émergé de cette proposition de changement de classification au sein de la communauté des biologistes travaillant sur ces huîtres. Il est notamment rétorqué aux auteurs de cette évolution taxonomique un nombre limité de gènes séquencés, un échantillonnage incomplet d'autres espèces de la sous-famille *Crassostreinae* et l'absence d'un diagnostic phénotypique incluant des traits autres que les données de séquence ADN pour proposer un changement taxonomique (Bayne et al., 2017). De plus, la confusion générée par ce changement de nomenclature est apparue inutile pour une espèce si largement connue et exploitée. En s'appuyant sur cette dernière publication, cette thèse utilisera le nom scientifique *Crassostrea gigas* tout au long de ce manuscrit pour désigner l'huître creuse, aussi connu sous les noms vernaculaires huître creuse du Pacifique, huître du Pacifique, huître creuse japonaise ou huître japonaise.

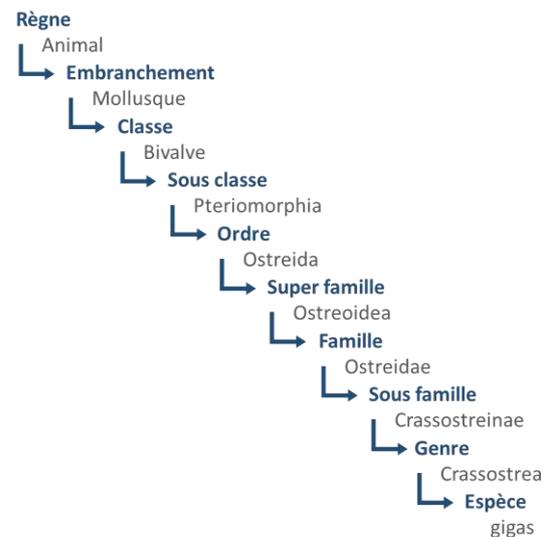


Figure 7: Classification taxinomique de l'huître creuse *Crassostrea gigas*

2.2. Habitat

L'huître creuse *Crassostrea gigas*, considérée comme une espèce non-native invasive (King et al., 2021), possède une grande capacité de colonisation du milieu et d'adaptation à son environnement. Elle vit dans les écosystèmes marins et estuariens, se fixe à des substrats de préférence solides de la zone intertidale à subtidale de faible profondeur, jusqu'à 15 mètres, bien qu'elle puisse également coloniser des fonds vaseux et sablo-vaseux (Miossec et al., 2009). Cette espèce euryhaline vit dans une eau de mer dont la salinité peut varier généralement entre 10 et 30 ‰, bien qu'elle tolère des variations plus importantes (elle peut survivre jusqu'à 5‰). Sa grande capacité à supporter de grandes amplitudes de températures (de 3,5 à 40°C dans l'eau et entre -12 et 40°C dans l'air) en fait une espèce eurytherme (Hansen et al., 2023 ; Troost, 2010). Étant un organisme marin sessile poïkilotherme, la température corporelle interne de *C. gigas* varie avec celle de son environnement, qu'elle soit immergée ou émergée. *C. gigas* se nourrit en filtrant les producteurs primaires, puis devient à son tour une proie pour plusieurs espèces de poissons, crabes, homards, étoiles de mer, bigorneaux, oiseaux et bien sûr des humains. En tant qu'espèce ingénieuse, sa place dans l'écosystème est importante. Elle est responsable de la structuration des écosystèmes et fournit de nombreux services écosystémiques bénéfiques aux sociétés humaines (Miossec et al., 2009). Elle se développe sur les substrats des zones intertidales, infralittorales et estuariennes, créant ainsi des récifs complexes qui protègent les côtes de l'érosion, offrent

des habitats, des sites de nurserie et de reproduction à de nombreuses espèces, contribuant ainsi à augmenter la biodiversité locale (Coen et al., 2007 ; Salvador de Paiva et al., 2018 ; van der Schatte Olivier et al., 2020). Les huîtres jouent également un rôle important dans l'amélioration de la qualité de l'eau en tant qu'espèce suspensivore, participant à la fixation des sédiments et contribuant aux cycles biogéochimiques (Reise and van Beusekom, 2008). Par contre, son caractère invasif lui a permis d'établir des bancs dans divers endroits du globe (Figure 8), impactant négativement des espèces endémiques par compétition en induisant une modification des écosystèmes.

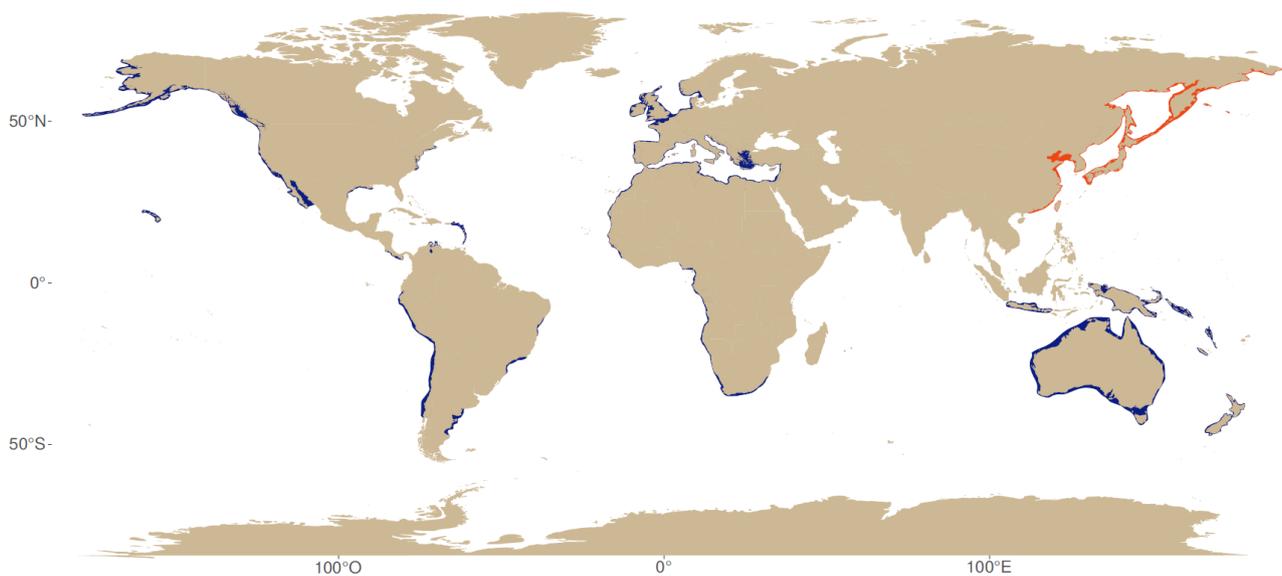


Figure 8: Distribution mondiale de *C. gigas*, avec la zone d'origine indiquée en rouge et les régions où elle s'est établie en bleu. Carte extraite de la thèse de Pousse (2017)

2.3. Anatomie

L'huître creuse est un animal à corps mou comprimé latéralement, protégé par une coquille composée de deux valves asymétriques, reliées par un ligament charnière et maintenues par un muscle adducteur postérieur permettant l'ouverture et la fermeture de la coquille. La coquille est la principale défense des huîtres mais elle permet également à l'animal de résister à de longues périodes d'émersion en se fermant hermétiquement.

La partie molle de l'animal est composée de différents organes enveloppés dans le manteau dont les deux lobes sont soudés dans la partie antérieure près de la charnière et qui délimite la cavité palléale. Bien que la production des valves constitue une fonction principale du manteau, il assure d'autres tâches. Il a une fonction sensorielle, permettant de déclencher la

fermeture des valves en réponse à des conditions défavorables de l'environnement et une fonction de stockage de réserves énergétiques sous forme de glycogène. Il est également le support de l'aire gonadique composée des tubules gonadiques contenant les gamètes. La structure de l'aire gonadique varie fortement au cours du cycle de reproduction et n'est donc pas permanente chez l'huître.

Les branchies disposées en quatre feuillets lamellaires soudées au manteau à leur base ont aussi plusieurs rôles. Elles assurent la fonction de respiration ainsi que de nutrition grâce à leurs filaments ciliés qui créent un courant d'eau permanent et assurent un apport continu en oxygène et l'acheminement des particules alimentaires. Les huîtres sont des animaux filtreurs qui se nourrissent principalement de phytoplancton et de bactéries présentes dans le milieu. Cette source de nourriture est d'abord retenue par le mucus qui tapisse les branchies puis est transportée grâce aux battements des cils vibratiles jusqu'aux quatre palpes labiaux qui procèdent à un premier tri et la dirigent vers la bouche de l'animal. Les particules non retenues forment les pseudo-fèces et le reste poursuit son chemin dans le système digestif. Chez l'huître, il est composé de la bouche et de l'œsophage qui transporte la nourriture à l'estomac grâce à des cils. Arrivé dans l'estomac, une action mécanique de broyage est assurée par le stylet cristallin qui libère aussi des enzymes digestives en butant sur une partie chitineuse. La soupe nutritive remonte ensuite au niveau des canaux de la glande digestive (hépatopancréas) où s'opère une digestion intracellulaire et l'absorption des nutriments. Les déchets résultant de la digestion et provenant de l'intestin sont évacués sous forme de fèces par le rectum.

L'huître possède un système circulatoire qui est dit semi-ouvert car il est partiellement clos et de type lacunaire. Il est constitué de vaisseaux, de sinus cœlomiques et d'un cœur, composé d'un ventricule et de deux oreillettes, situés dans la cavité péricardique en avant du muscle adducteur postérieur. L'hémolymphe, qui est le liquide circulant, communique avec le milieu de la cavité palléale en circulant dans les aortes, les artères, les artéριοles jusqu'aux sinus dans lesquels baignent les organes. L'hémolymphe contient les hémocytes qui jouent un rôle important dans le transport des nutriments, la respiration cellulaire et la défense immunitaire (Allam and Raftos, 2015).

Chez l'huître, le système nerveux n'est pas centralisé, il est réduit et composé de ganglions cérébroïdes et de deux ganglions viscéraux.

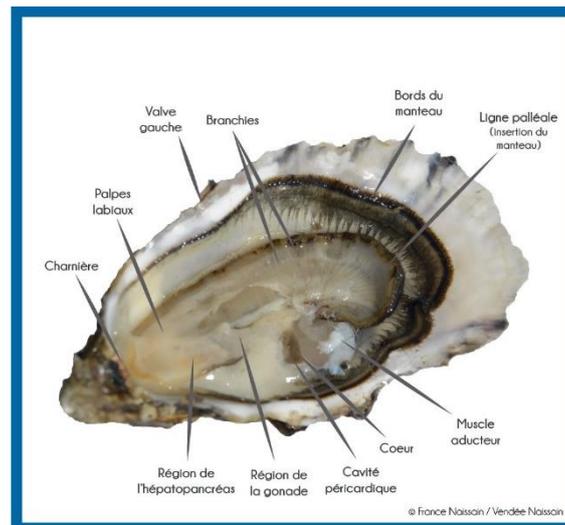


Figure 9: Anatomie des principaux organes de l'huître creuse *Crassostrea gigas* adulte sans sa valve droite et la partie droite du manteau.
Issue de www.francenaisain.com.

2.4. Développement et reproduction de l'huître creuse

2.4.1. Cycle de vie

L'huître creuse a un cycle de vie en deux phases. La première phase qui comporte le développement embryonnaire et larvaire est pélagique. Après que les gamètes ont été émis dans la colonne d'eau puis qu'il y a eu fécondation, les embryons se transforment rapidement en larves trochophores (environ 16 à 18 heures après la fécondation) qui se déplacent dans la colonne d'eau grâce à des cils en tournant sur elles-mêmes. Quelques heures plus tard (24 à 48h après la fécondation), la larve développe un système digestif fonctionnel, un velum avec une couronne ciliée et une première coquille d'aragonite qui, de par sa forme, lui vaut le nom de larve D. Sa croissance se poursuit par le développement des deux valves de la coquille au stade véligère puis devient umbo et enfin oeuillée (environ 14 à 21 jours après la fécondation). Le dernier stade de la phase pélagique est caractérisé par l'apparition d'un pied pour une taille comprise entre 300 et 380 μm à environ 14-25 jours après la fécondation. Ce stade est dit pédivéligère puisque la larve acquiert une compétence de fixation et démarre un comportement de prospection territoriale du compartiment benthique notamment grâce à son pied. Les larves sont capables de ressentir leur environnement et d'évaluer la qualité de l'habitat en réponse à différents stimuli. Les conditions physico-chimiques de l'habitat exploré détermineront si les larves peuvent soit se métamorphoser et passer à une vie benthique soit se remettre à nager et se déplacer vers un autre habitat à prospecter.

Commence alors la seconde phase, benthique, qui consiste en la croissance du stade juvénile au stade adulte. La fixation s'accompagne d'une métamorphose qui inclut des changements morphologiques et physiologiques par exemple de la coquille et du système alimentaire et respiratoire. Au stade juvénile, les huîtres sont communément appelées « naissain » puis deviennent adultes avec l'acquisition de leur maturité sexuelle, environ au bout d'un an.

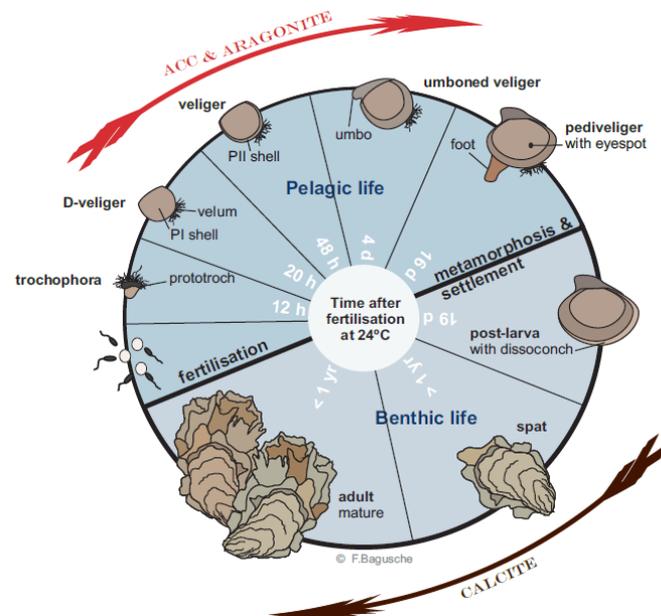


Figure 10: Schéma du cycle de vie de l'huître creuse, distinguant une phase benthique et une phase pélagique. Figure extraite de la thèse de (Bagusche, 2013)

2.4.2. Reproduction

L'huître creuse est un organisme hermaphrodite séquentiel irrégulier à tendance protandre ce qui implique qu'elle est généralement mâle lors de la première saison de reproduction puis des changements de sexe alternent de façon irrégulière chez un même individu au cours des cycles suivants (Guo et al., 1998). Cependant, certains travaux invalident cette hypothèse de protandrie avec un sex-ratio à 1ère maturité sexuelle à dominante femelles (Santerre et al., 2013). Par exemple le suivi du sexe d'huîtres d'une large cohorte ($\approx 7\ 500$ animaux) sur six ans a montré un sex-ratio significativement plus élevé en faveur des femelles chaque année, allant de 61 à 73% (Broquard et al., 2020). Dans cette même étude, 32% des huîtres ont changé de sexe une fois (19 % protandre et 13 % protogyne), 19% deux fois, 5% trois fois, 1% quatre fois et 0,1% cinq fois, soit un total de 58% d'hermaphrodites séquentiels. De plus, environ 1% d'individus d'une population présenteraient un hermaphrodisme simultané avec

des cellules germinales mâles et femelles dans la gonade (Broquard, 2019 ; Dégremont et al., 2022).

La gonade chez l'huître creuse est composée de tubules gonadiques et de tissu conjonctif vésiculaire appelé tissu de réserve. Ce dernier est une source de glycogène mobilisée lors de la gamétogenèse dans les tubules gonadiques qui contiennent les cellules germinales et les cellules somatiques associées. Pendant la période de maturité sexuelle, la gonade devient l'organe le plus volumineux de l'animal, ce qui se fait aux dépens du tissu de réserve (Berthelin et al., 2001). Les gamètes sont transportés et expulsés dans le milieu extérieur par le gonoducte. Après la ponte, la gonade subit une forte modification, où les tubules gonadiques régressent, les cellules germinales restantes sont phagocytées par des hémocytes et le tissu conjonctif vésiculaire se développe. Pendant la phase de repos sexuel, un nombre limité de tubules gonadiques se maintient, avec des cellules souches permettant l'initiation d'une prochaine gamétogenèse (Fabioux et al., 2004). L'organe reproducteur de l'huître creuse fluctue, se développant et régressant en fonction de l'avancée de la gamétogenèse. Le cycle de reproduction de l'huître creuse est cyclique et annuel, et a été divisé en quatre principaux stades par différents auteurs (Berthelin et al., 2001).

Le stade 0 correspond à la phase de repos sexuel, où l'aire gonadique est restreinte et le tissu conjonctif vésiculaire commence à se reformer. Il a lieu entre l'automne et le début d'hiver.

Le stade I est la phase d'initiation de la gamétogenèse, avec la prolifération des gonies et la différenciation en spermatogonies ou en ovogonies. Il a lieu en hiver et perdure jusqu'au printemps.

Le stade II est la phase de différenciation cellulaire, de méiose et de maturation des cellules germinales, avec des tubules gonadiques volumineux et une régression du tissu de réserve. Il a lieu pendant le printemps.

Le stade III est la phase de maturité sexuelle. Il se passe de la fin du printemps jusqu'à la fin de l'été. Les tubules gonadiques sont d'abord pleins de spermatozoïdes ou d'ovocytes matures qui sont ensuite émis partiellement ou totalement dans le milieu extérieur. La fin de ce stade est marquée par la régression des tubules gonadiques et la résorption des gamètes non émis menant progressivement au stade 0 de repos sexuel.

Chez *C. gigas*, la reproduction est de type externe, ce qui signifie que la fécondation a lieu une fois que les spermatozoïdes et les ovocytes ont été libérés simultanément.

2.5. Mécanismes de défense

Animaux marins sessiles et filtreurs vivant dans les régions estuariennes et intertidales, les huîtres doivent faire face à des variations environnementales importantes et rapides, y compris un large éventail de stress biotiques (bactériens, fongiques, viraux) et abiotiques (variation dynamique de la température, de la salinité et de la dessiccation prolongée). L'évolution a donc sélectionné une gamme de stratégies de défenses diverses et complexes pour faire face à ces agressions multiples. L'immunité est la capacité d'un organisme à résister aux agents infectieux. Cette capacité est assurée par le système immunitaire, un réseau complexe d'organes, de cellules et de molécules qui agissent ensemble pour défendre l'organisme contre les agents pathogènes. Le système immunitaire peut être divisé en deux grandes catégories : l'immunité innée, commune à tous les êtres vivants, qui fournit une réponse immédiate et non-spécifique contre les agents pathogènes, et l'immunité adaptative, spécifique aux vertébrés, qui fournit une réponse spécifique et à long terme en créant des anticorps et des cellules immunitaires qui reconnaissent spécifiquement les agents pathogènes auxquels l'organisme a été exposé auparavant. Cette mémoire immunitaire est à la base de l'efficacité des vaccins. Bien qu'il soit généralement reconnu que les bivalves manquent d'immunité adaptative, il est de plus en plus évident qu'ils peuvent mettre en place des réponses immunitaires sophistiquées avec des formes uniques de mémoire immunitaire (Wang et al., 2018). Chez plusieurs invertébrés, la pré-exposition à un agent pathogène a apporté une protection accrue à ces organismes ou à leur progéniture contre de futures agressions (Fallet et al., 2022 ; Melillo et al., 2018 ; Tetreau et al., 2019). Grâce à ces mécanismes de préparation de l'immunité innée, appelés "innate immune-priming", il est possible de développer une forme d'immunité non spécifique après une première exposition à un agent pathogène.

2.5.1. Des barrières physiques

Afin de réagir face aux nombreuses agressions possibles, la première ligne de défense d'un bivalve est sans aucun doute la protection physique offerte par sa coquille en carbonate de calcium. Elle lui permet de se refermer et de protéger son corps mou lorsque des variations physique ou chimique sont détectées. Une fois refermée, grâce aux muscles adducteurs antérieurs et postérieurs, l'huître peut résister aux prédateurs, à l'exondation, aux différences de températures et aux variations de salinité pendant plusieurs jours (Miossec et al., 2009). Les huîtres possèdent des surfaces épithéliales qui entrent en contact avec une abondante microflore, créant ainsi un environnement compétitif qui limite l'établissement de potentiels agents pathogènes (Schmitt et al., 2012). En plus de la barrière épithéliale comme protection, s'ajoute le mucus présent notamment sur les branchies, le manteau et les palpes labiaux. Il représente une barrière physique qui permet de piéger et de rejeter des particules, mais permet aussi de protéger l'hôte grâce aux enzymes qu'il peut contenir comme des lysozymes ou des protéases ainsi que des composés antimicrobiens comme les agglutinines (revu par Allam and Raftos, 2015).

2.5.2. Une réponse immunitaire innée

Lorsque la première ligne de défense est franchie, et que les agents pathogènes entrent dans les tissus des bivalves, la ligne de défense suivante est le système immunitaire inné. Elle consiste en une série de réaction en chaîne de mécanismes de défenses cellulaire et moléculaire pour éviter la prolifération des agents pathogènes. Comme décrit précédemment, le cœur de l'huître propulse l'hémolymphe dans les organes périphériques et les cavités corporelles à travers un système circulatoire semi-ouvert. Cette hémolymphe, constituée de plasma et d'hémocytes, est le principal lieu des diverses réactions de défense de l'organisme. Chez les mollusques, on distingue généralement deux types d'hémocytes : les granulocytes, qui jouent un rôle important dans la défense contre les micro-organismes et contiennent de nombreux granules lysosomales dans leur cytoplasme, et les hyalinocytes (ou agranulocytes), qui en ont très peu ou pas du tout. Chez les bivalves, le système immunitaire inné comprend deux composantes principales : les mécanismes cellulaires, qui impliquent les

cellules immunitaires compétentes (les hémocytes), et les mécanismes humoraux, qui font intervenir des molécules actives présentes dans l'hémolymphe.

2.5.2.1. Médiation cellulaire

Afin d'avoir une réponse immunitaire efficace, la réponse immunitaire innée, grâce aux hémocytes, s'amorce par une première étape qui consiste en la reconnaissance de cellules et de particules du non-soi. Les huîtres sont capables de détecter les agents externes (non-soi) grâce à des protéines spécifiques. Elles utilisent un nombre limité de récepteurs de reconnaissance des formes (PRR, *pattern recognition receptor*) pour identifier les motifs moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMP, *pathogen associated molecular pattern*) qui sont conservés au fil de l'évolution, et activer ainsi les mécanismes de défense (Guo et al., 2015). La plupart des PRR sont des protéines multifonctionnelles, qui interviennent non seulement dans la reconnaissance immunitaire, mais aussi dans l'élimination des microbes envahissants. Jusqu'à présent, diverses PRR, telles que les protéines de reconnaissance du peptidoglycane (PGRP), divers lectines, des récepteurs Toll-like (TLR), des protéines de liaison aux Gram négatifs (GNBP), ou encore des « scavenger receptors » (SR), ont été identifiées chez les huîtres (L. Wang et al., 2018). Bien que les PRR détectent les PAMP exprimés par les microbes, ils peuvent également reconnaître des molécules du soi (i.e. acides nucléiques de l'hôte), ce qui peut jouer un rôle dans la pathogenèse de certaines maladies auto-immunes.

Cette reconnaissance de motifs moléculaires induit de nombreux processus, constituant l'immunité à médiation cellulaire et impliquant les hémocytes, tels que l'infiltration, la phagocytose, l'encapsulation ou encore la mort cellulaire programmée.

L'infiltration est mise en place lors d'une infection ou d'une blessure, avec une mobilisation des hémocytes dans le système circulatoire de l'huître, ce qui entraîne une augmentation de leur nombre (Allam and Raftos, 2015). Les hémocytes sont ensuite concentrés vers le site de l'infection où ils s'agrègent entre eux pour limiter l'étendue de la lésion ou de l'infection. Les hémocytes peuvent alors remplacer les tissus endommagés en cas de lésion tissulaire ou bien procéder à la phagocytose ou l'encapsulation des agents pathogènes pour les éliminer (Ford et al., 1993).

La phagocytose est un processus cellulaire impliquant l'internalisation et l'élimination de particules étrangères telles que des bactéries, des virus ou des parasites protozoaires. Elle commence par la reconnaissance de ligands (PAMP) présents sur les particules étrangères. La seconde étape est l'internalisation de l'agent pathogène par endocytose. Le phagosome formé fusionne ensuite avec un lysosome pour former le phagolysosome. La lyse de la particule ingérée se fait enfin grâce aux enzymes libérées dans le phagolysosome entraînant une série de processus tels que l'acidification, l'accumulation de métaux toxiques, la production d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (ROS/RNS) et la fourniture de peptides antimicrobiens (Schmitt et al., 2012).

Lorsque les particules ou les agents pathogènes sont trop grands pour être phagocytés, la réponse immunitaire des invertébrés est l'encapsulation. Ce processus consiste à former une capsule avec les hémocytes autour de l'élément étranger. De la même manière que pour la phagocytose, l'activité enzymatique lysosomale et la production de ROS vont détruire la particule.

Enfin, la mort cellulaire programmée peut se faire soit par apoptose soit par autophagie. C'est un processus cellulaire fondamental pour l'homéostasie des organismes mais aussi pour l'immunité innée. L'apoptose peut être définie comme le processus d'autodestruction des cellules infectées ou défectueuses. Elle est induite par des changements environnementaux (chaleur, salinité, métaux lourds, hypoxie) et la présence de bactéries, de virus et de parasites (L. Wang et al., 2018). L'autophagie a pour fonction de lyser les agents pathogènes intracellulaires et les organites cytosoliques, entraînant la formation d'une structure à double membrane appelée autophagosome. Il est intéressant de noter que l'inhibition de l'autophagie a entraîné une diminution de la survie des huîtres face à deux agents pathogènes induisant des fortes mortalités (voir chapitre 1 section 2.6.2.3), le virus OshV-1 et la bactérie *Vibrio aestuarianus* (Moreau et al., 2015). Cela suggère que l'autophagie joue un rôle important dans la défense contre les infections virales et bactériennes.

2.5.2.2. Médiation humorale

Conjointement au système de défense cellulaire, la médiation humorale fait intervenir de nombreuses molécules effectrices présentes dans l'hémolymphe. L'immunité humorale fait

référence à la réponse immunitaire qui se produit dans les fluides corporels. Comme pour la phagocytose, ce processus commence par la reconnaissance immunitaire des PAMP présents sur les microbes par les PRR. Différentes cascades de réactions ou de production de molécules sont activées à la suite d'un stress cellulaire ou en présence d'un agent pathogène.

Des enzymes hydrolitiques comme les phosphatases alcalines, les lysozymes et les protéases de même que des peptides anti microbiens (AMP) et des molécules cytotoxiques antivirales qui sont synthétisés dans les granulocytes vont être directement impliqués dans la destruction des organismes pathogènes (Wang et al., 2018).

D'autres molécules en retour vont servir à réguler ces activités immunitaires. Parmi elles, les enzymes anti-oxydantes (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase), utiles pour limiter le stress oxydatif induit par des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Genard et al., 2013) qui peuvent induire des dommages à l'ADN, aux lipides et aux protéines (Donaghy et al., 2012). D'autres molécules sont utiles pour la régulation comme les protéines de stress (HSP, *heat shock proteins*) qui peuvent être surexprimées pour la réparation des lésions (Robert, 2003) ainsi que les inhibiteurs de protéases qui évitent l'activation excessive de cascades protéolytiques endogènes induisant des dommages cellulaires et permettent la pénétration des agents pathogènes dans l'hôte (Faisal et al., 1998).

2.5.3. Immune priming (mémoire immunitaire)

Les vertébrés ont une capacité de mémoire immunitaire spécifique qui leur permet de répondre à des agents pathogènes de manière adaptative. Les invertébrés, sans lymphocytes, ont longtemps été considérés comme incapables de cette réponse spécifique jusqu'à récemment. Cependant, les dernières recherches ont montré que les cellules immunitaires innées peuvent également avoir des caractéristiques de mémoire immunitaire, appelées "immune priming". Ce mécanisme est associé à une mémoire immunitaire innée qui peut être définie comme la capacité d'un organisme à stocker ou à utiliser l'information d'une première rencontre avec un agent pathogène ou parasitaire, afin d'avoir une réponse immunitaire améliorée lors d'une seconde rencontre (Little and Kraaijeveld, 2004). Les plantes et les invertébrés ont également montré des capacités d'immunité entraînée dans des études récentes (Gourbal et al., 2018). Des travaux récents sur les mollusques, dont *C. gigas*, ont

montré l'existence d'une forme de mémoire immunitaire (Green et al., 2016 ; Green and Speck, 2018 ; Lafont et al., 2020, 2017 ; Zhang et al., 2014), suggérant la possibilité d'une préparation immunitaire antivirale et antibactérienne. Par exemple, une première stimulation de l'huître creuse par une exposition à une souche de *Vibrio splendidus* désactivée a provoqué une augmentation du nombre total d'hémocytes circulants, de leur régénération ainsi qu'une phagocytose accrue lors d'une seconde exposition à *V. splendidus* (Zhang et al., 2014). Il a également été démontrée la possibilité d'améliorer les capacités immunitaires des huîtres face à l'infection par OshV-1 par l'injection de poly (I:C), imitant une infection virale (Lafont et al., 2020). Cela pose la question des mécanismes sous-jacents de la mémoire immunitaire chez les invertébrés. De manière générale, trois processus peuvent expliquer une meilleure réponse immunitaire lors d'une infection ultérieure (Coustau et al., 2016). Deux d'entre elles sont retenues comme probable chez les mollusques : le « recall response » qui consiste à stocker l'information et se traduit par une baisse de la réponse immunitaire avec le temps et après la première infection, puis une réponse plus rapide et plus intense lors de la seconde infection, et « immune shift » où l'hôte engage des mécanismes moléculaires différents par d'autres effecteurs immunitaires entre la première et la seconde infection pour une meilleure efficacité.

D'un point de vue global, les études récentes renforcent l'hypothèse de l'existence d'une mémoire immunitaire chez les invertébrés. La possible contribution du remaniement épigénétique à la formation de cette mémoire immunitaire innée est suggérée (Gawra et al., 2023). Cela soulève un certain nombre de questions importantes sur la nature de la réponse immunitaire et ses liens avec la variabilité génétique.

2.6. Les menaces pour la production

2.6.1. Facteurs de risque pour la santé humaine

2.6.1.1. Micro-algues toxiques

Le secteur conchylicole a dû aussi faire face à des crises liées aux efflorescences de micro-algues toxiques, qui ont des effets néfastes sur l'environnement et les organismes marins (Hallegraeff et al., 1995). Certaines espèces de micro-algues produisent des composés toxiques qui peuvent avoir des effets diarrhéiques, amnésiants, neurotoxiques ou paralysants

chez l'homme (Hallegraeff et al., 2004). Les bivalves, en filtrant l'eau de mer, peuvent accumuler de grandes quantités de toxines posant un risque pour les consommateurs. Pour protéger les consommateurs, des seuils ont été établis et un suivi a été mis en place pour surveiller les zones à risque (REPHY). Les mesures de contrôle et de surveillance représentent un coût important pour le secteur conchylicole car au-delà du seuil de toxine fixé, le prélèvement et la commercialisation des coquillages sont interdits dans les zones où l'espèce de microalgue mise en cause est détectée. Des études sur la variabilité inter-individuelle d'accumulation des toxines paralytiques suggèrent une différence dans le comportement de nutrition des huîtres en présence de micro-algues toxiques (Pousse et al., 2018). Cela suggère une possibilité de sélectionner le caractère "faible potentiel d'accumulation" chez les huîtres pour avoir des individus qui auraient tendance à moins accumuler de toxines. Chez la moule de Méditerranée (*Mytilus galloprovincialis*), une héritabilité modérée a été observée (0,35) appuyant encore plus la faisabilité de programmes de sélection de ce type de caractère (Pino-Querido et al., 2015).

2.6.1.2. Agents pathogènes

2.6.1.2.1 Virus

Les coquillages élevés en zone littorale peuvent être soumis à de nombreuses sources de contamination. Un genre de virus particulier impacte la profession conchylicole sans pour autant être pathogène pour les mollusques. En effet, les norovirus, agents majeurs de gastro-entérites chez l'homme, sont les agents pathogènes les plus fréquemment incriminés dans les épidémies liées à la consommation de coquillages contaminés, des huîtres dans la plupart des cas (Le Guyader et al., 2008). Du fait de l'implication des norovirus dans des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) pouvant engendrer un problème de santé publique important, des actions de contrôle de la qualité sanitaire des coquillages et de leurs zones de production ont été fixées. Parmi ces actions, la fermeture de zone ou le retrait et rappel des denrées alimentaires sont souvent appliqués en cas de risque pour la santé publique. Les norovirus ne se développent ni dans l'environnement ni dans les huîtres. La contamination des coquillages provient essentiellement d'un rejet important de ces virus pendant la période hivernale lors d'épidémie de gastro-entérites. Des pluies importantes, des déversements accidentels d'eaux

usées (débordement de stations d'épuration) ou encore le rejet direct de virus sont autant de facteurs menant à une contamination des mollusques présents dans les zones intertidales. De plus la combinaison d'une persistance de plusieurs jours/semaines des norovirus dans l'environnement (Hassard et al., 2017), avec la capacité de bioaccumulation jusqu'à 100 fois supérieure à la concentration dans l'environnement et d'une persistance des norovirus dans la chair des huîtres jusqu'à 4 semaines expliquent les risques de contamination de l'homme par ingestion. La dépuraison des norovirus par les huîtres est lente (entre 9 et 45 jours pour réduire d'un log la concentration (McLeod et al., 2017)), ce qui requiert du temps avant la possible remise en vente (28 jours en France pour la réouverture d'une zone sous conditions).

Entre décembre 2019 et début janvier 2020, 179 suspicions de contaminations liées à la consommation d'huîtres ont été signalées dans plusieurs régions. Ce sont ainsi 23 zones conchylicoles qui ont été fermées, situées dans 7 départements : la Charente Maritime (2 zones) ; l'Ille et Vilaine (2 zones) ; le Morbihan (8 zones) ; la Manche (2 zones) ; la Loire Atlantique (3 zones) ; l'Hérault (4 zones) et le Calvados (2 zones). Plus de 400 entreprises sont concernées par ces mesures de restrictions. Les conséquences économiques pour l'industrie conchylicole et l'inefficacité de la dépuraison soulignent la nécessité d'améliorer la qualité des eaux côtières pour garantir la salubrité des huîtres.

2.6.1.2.2 Bactéries

Les bactéries de type bacille du genre *Vibrio* sont abondantes dans les eaux marines et peuvent adopter différentes formes de vie : libres, symbiotiques ou parasitaires. De nombreuses espèces pathogènes pour les vertébrés et les invertébrés marins et terrestres ont été identifiées. Le genre *Vibrio* compte actuellement 146 espèces reconnues¹, bien que l'identification et la classification soient en constante évolution. Certaines espèces de *Vibrio* sont également responsables d'infections chez l'Homme, telles que *V. cholerae* qui provoque le choléra, *V. vulnificus* qui cause des infections opportunistes, et *V. parahaemolyticus* qui est associée à des manifestations diarrhéiques. Parmi ceux-ci, *V. parahaemolyticus* est de loin l'agent infectieux le plus courant mais *V. vulnificus* est l'agent pathogène d'origine alimentaire le plus mortel aux États-Unis, où il est à l'origine de 95 % des décès liés aux produits de la mer (Froelich and Noble, 2016). Entre 1995 et 2012, le Centre national de référence des vibrions

¹ <https://lpsn.dsmz.de/genus/vibrio>

et du choléra de l'Institut Pasteur rapporte, en France, 20 cas de gastro-entérites, trois chocs septiques et deux surinfections de plaies dues à *V. parahaemolyticus*. La présence de *Vibrio* sp. potentiellement pathogènes dans les eaux côtières et les coquillages des pays européens a déjà été documentée, notamment en Italie, en Espagne et en France (Cantet et al., 2013). De par leur grande capacité de filtration, les huîtres peuvent concentrer ces bactéries, jusqu'à 100 fois la concentration trouvée dans les eaux environnantes (DePaola et al., 2003). Actuellement, il n'existe pas de plan de surveillance ou plan de contrôle systématiques en Europe pour les bactéries du genre *Vibrio*. De fait, leur incidence est difficile à connaître. La réglementation européenne (règlement CE n° 2073/2005 et ses actes modificatifs) ne prévoit pas de critères microbiologiques spécifiques dans les aliments pour les vibrions pathogènes pour l'Homme mais une recherche peut être demandée par le ministère de l'agriculture et de la pêche en France pour les produits de la mer à l'importation. Les résultats d'une étude mettent en évidence la présence des trois espèces de *Vibrio spp.* dans l'étang de Thau et soulignent un risque potentiel pour la santé publique (Cantet et al., 2013). Une étude récente a montré que la contamination par *V. parahaemolyticus* d'huîtres triploïdes sur l'estran était similaire à celles des huîtres diploïdes (Sorée et al., 2023). De plus, des résultats similaires ont été observés concernant l'accumulation et la dépurcation expérimentale de *V. parahaemolyticus*, soulignant que la consommation des huîtres triploïdes pendant la période estivale, période pendant laquelle *V. parahaemolyticus* est le plus souvent détectée (Baker, 2016), ne présentait pas plus de risque que la consommation des huîtres diploïdes.

2.6.2. Éléments néfastes pour les huîtres

2.6.2.1. Polluants

Les milieux côtiers sont des zones attractives tant aux niveaux économiques que récréatifs qui peuvent avoir un impact sur la qualité de l'eau. En effet, ces masses d'eau peu profondes et situées près de la côte sont vulnérables face aux diverses pressions anthropiques. Elles sont sensibles aux pollutions provenant à la fois de la mer mais surtout de la terre qui représentent 80 % de la pollution selon l'administration nationale des océans et de l'atmosphère (NOAA), (Vikas and Dwarakish, 2015). Les bivalves, en raison de leur large distribution, de leur

comportement sessile, de leur occupation de niches écologiques et de leur capacité à filtrer un grand volume d'eau, sont considérés comme des bioindicateurs.

Les activités agricoles ont longtemps été, et restent encore, mises en cause de par leur grande consommation en produit phytosanitaire comme les herbicides et les pesticides. Ces produits utilisés pour protéger les cultures peuvent se retrouver dans les sols et parfois atteindre les nappes phréatiques ou être emportés vers la mer lors de forts événements pluvieux. Les estuaires qui reçoivent ces apports en eau de tout le bassin versant vont ainsi être des zones particulièrement à risque où les polluants chimiques vont se retrouver en grande quantité. Outre les produits phytosanitaires, l'augmentation constante des déchets industriels, sources de métaux lourds (comme le cadmium, le mercure, le chromium ou le cuivre), entraîne aussi un transfert de polluants vers les zones estuariennes. Les mollusques bivalves marins, en tant qu'organismes filtreurs, sont connus pour accumuler des métaux qui peuvent avoir des effets délétères sur les organismes (Zuykov et al., 2013). D'autres polluants issus de processus industriels existent, comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) qui ne sont dégradés que très lentement par les processus industriels et sont ainsi considérés comme polluants organiques persistants. De même les PolyChlorinated Biphenyls (PCB) ou les produits pharmaceutiques peuvent être relâchés dans l'environnement et posent des risques potentiels sur l'environnement côtier. L'ensemble de ces pollutions peuvent causer différentes toxicités, telle qu'une malformation embryonnaire, une différenciation sexuelle, une perturbation endocrinienne et des effets immunotoxiques, à différents stades de développement, au cours de la vie entière (Renault, 2015 ; Wang et al., 2018). Au cours des dernières années, la problématique de la pollution plastique a suscité de plus en plus d'intérêt, ce qui s'est traduit par une augmentation significative du nombre d'études menées sur ce sujet. Les déchets plastiques ne sont pas seulement présents dans les compartiments abiotiques, ils ont aussi été retrouvés dans une grande diversité d'espèces aquatiques, des microalgues aux grands mammifères (Ferreira et al., 2019). Certaines études se sont concentrées sur les bivalves et ont permis de découvrir les mécanismes d'absorption, d'internalisation, de répartition et d'élimination des microplastiques et nanoplastiques, ainsi que leurs effets sur les paramètres physiologiques, les altérations morphologiques, l'immunotoxicité, les changements dans l'expression des gènes et les profils protéomiques (Sendra et al., 2021).

2.6.2.2. Changement global

Bien sûr, l'évolution des conditions océaniques causée par le changement global a aussi un impact sur l'aquaculture des bivalves (Allison et al., 2011 ; Tan and Zheng, 2020). Les variations de la salinité, de la température et de la chimie des océans à la surface de la mer (l'acidification des océans), les modifications des régimes de précipitations ainsi que les vagues de chaleur plus fortes et plus fréquentes sont quelques-unes des principales conséquences du changement climatique sur l'environnement marin prévues pour les décennies à venir et décrites dans le dernier rapport du GIEC (IPCC, 2023). D'ailleurs, l'augmentation de la fréquence et de l'intensité des mortalités massives récurrentes de bivalves dans le monde entier y sont souvent associées (Soon and Ransangan, 2019). L'acidification des océans a été observée chez les bivalves marins, pouvant provoquer la dissolution de leur coquille et une réduction de leur croissance (Gazeau et al., 2013 ; Melzner et al., 2011). L'impact du changement global sur l'aquaculture des bivalves peut varier selon différents facteurs tels que la latitude, l'emplacement, les méthodes d'élevage et les espèces de bivalves (Tan et al., 2020). Les températures de surface de la mer, en particulier pendant les mois d'été, peuvent constituer un défi pour les espèces ayant une tolérance thermique plus faible. Les espèces intertidales telles que les huîtres du Pacifique ont une plus grande tolérance au stress thermique que les espèces subtidales (comme la moule méditerranéenne, *Mytilus galloprovincialis*) et les espèces démersales enfouies dans le sable (comme la coque, *Cerastoderma edule*) (Rahman et al., 2019). Les baisses soudaines de la salinité de surface de la mer en cas de précipitations extrêmes peuvent être liées aux mortalités de bivalves dans les estuaires (Des et al., 2021). De plus, les interactions entre la salinité et la température peuvent accroître la mortalité et altérer la résistance des coquilles (Hiebenthal et al., 2012 ; Rato et al., 2022).

Récemment, une étude a suggéré que la sélection génomique (voir section 3.4.2) serait une option viable pour améliorer la survie dans des conditions de salinité extrêmement faibles pour *C. virginica* avec une héritabilité de 0,54 (McCarty et al., 2022). Cela montre des possibilités d'amélioration génétique pour faire face aux évolutions des conditions environnementales, mais de nombreuses autres études sont nécessaires pour explorer l'ensemble des conditions qui menacent les productions en aquaculture.

2.6.2.3. Maladies infectieuses chez *C. gigas*

Les changements rapides et perturbations du milieu ont des effets récurrents sur la production de coquillages, mais l'un des facteurs les plus importants qui fragilise l'industrie ostréicole est l'apparition de maladies infectieuses causées par des virus, des bactéries ou des parasites, d'autant qu'elles peuvent être aggravées par les autres facteurs mentionnés précédemment.

Plusieurs facteurs de risque ont été identifiés pour expliquer la sensibilité des huîtres aux agents pathogènes infectieux, qui peuvent se produire à différents niveaux, notamment à l'échelle de l'hôte par le cycle de vie ainsi que des facteurs génétiques et physiologiques. D'autres facteurs tels que les techniques d'élevage, les transferts entre sites ou la densité d'élevage peuvent favoriser la transmission des maladies (Alfaro et al., 2019 ; Normand et al., 2014 ; Pernet et al., 2012). De plus, d'autres facteurs liés aux conditions environnementales peuvent également être impliqués dans des mortalités, tels que la présence de prédateurs, la disponibilité de nourriture, l'eutrophisation, la pollution, les changements de paramètres comme la disponibilité d'oxygène ou la salinité, ainsi que la présence de toxines ou d'autres agents pathogènes. Le concept de la "triade épidémiologique" (Snieszko, 1974) permet de comprendre les interactions entre l'hôte, l'environnement (abiotique) et les agents pathogènes (biotique) (Figure 11). L'hôte peut ne pas présenter de symptômes et rester en bonne santé lorsqu'un des trois éléments manque. Dans des conditions environnementales défavorables, un stress peut être provoqué chez l'hôte même en l'absence d'agents pathogènes. Si l'environnement est favorable, la présence d'agents pathogènes peut entraîner des infections asymptomatiques où l'hôte est porteur du pathogène sans présenter de symptômes. Enfin, lorsque l'environnement ne permet pas la présence d'un hôte approprié, il n'y aura pas d'hôte malade, mais l'environnement peut néanmoins devenir infectieux si des hôtes appropriés apparaissent.

Il est généralement admis que les mortalités massives d'huîtres du Pacifique associées à la détection de l'Ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) sont causées par de multiples facteurs, notamment des infections virales et bactériennes, des facteurs de stress environnementaux et des dérèglements du système immunitaire (Samain and McCombie, 2008). Parmi les agents pathogènes associés aux mortalités massives d'huîtres du Pacifique dans le monde, OsHV-1

et ses variants seraient l'une des principales causes (Arzul et al., 2001c ; Dégremont et al., 2015a ; Lafont et al., 2017 ; Schikorski et al., 2011). De plus, plusieurs espèces de bactéries du genre *Vibrio* ont été détectées en association avec OsHV-1 lors d'événements de mortalités des huîtres (Beaz-Hidalgo et al., 2010 ; Garnier et al., 2007 ; Roux et al., 2002 ; Saulnier et al., 2010, 2009), et il a été suggéré qu'elles jouent un rôle majeur dans les épidémies (Petton et al., 2015).

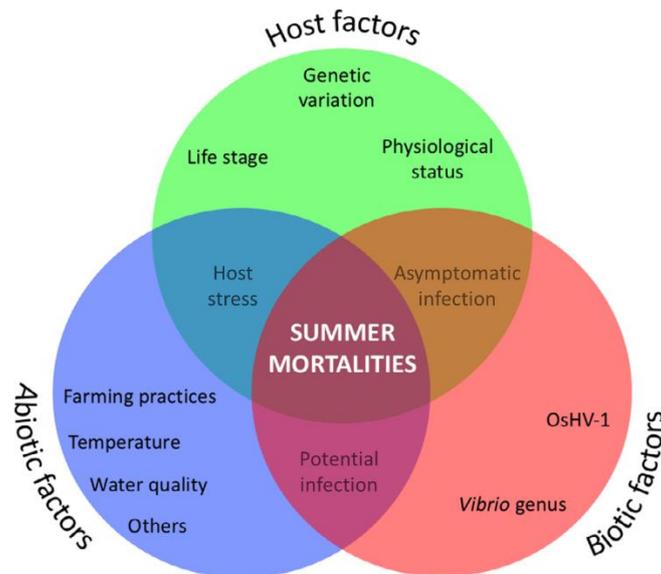


Figure 11: Triade épidémiologique adapté de Alfaro et al., 2019.

2.6.2.3.1 Bactéries pathogènes

Les bactéries marines sont les organismes les plus abondants dans les océans (en excluant les virus), avec des densités de population pouvant atteindre 10 milliards de cellules par litre d'eau de mer. Elles ont un rôle crucial dans l'écosystème marin, participant à la décomposition des matières organiques et dans le recyclage des nutriments essentiels, comme l'azote et le phosphore et pouvant être une source directe de nourriture. Certaines bactéries marines ont développé des relations symbiotiques avec d'autres organismes, tels que les coraux, les éponges et les mollusques, en leur fournissant des nutriments ou en les protégeant contre les agents pathogènes. Elles sont également impliquées dans des interactions pathogènes avec d'autres organismes marins. Les bactéries pathogènes pour les mollusques sont une préoccupation majeure dans l'aquaculture, car elles peuvent causer des maladies graves et parfois mortelles chez les bivalves tels que les huîtres et les moules, entraînant des pertes économiques importantes pour les producteurs (Renault, 1996). Les infections bactériennes chez les bivalves marins peuvent se produire à toutes les étapes de développement, de la

larve à l'adulte, et sont souvent associées à divers facteurs de stress environnementaux comme à des conditions de culture intensives. Certaines bactéries appartenant aux genres *Roseovarius*, *Nocardia*, *Rickettsia* et *Vibrio*, ont été décrites comme responsables de maladies chez les bivalves marins (Travers et al., 2015).

Dans les mollusques bivalves, les bactéries du genre *Vibrio* sont souvent impliquées dans des épisodes de mortalité liés à des infections bactériennes. Les principales espèces de ce genre, responsables d'infections dans les écloseries ou sur le terrain, appartiennent aux clades *Splendidus*, *Harveyi* ou aux espèces *V. aestuarianus*, *V. tubiashii*, *V. coralliilyticus* et *V. tapetis* (Saulnier et al., 2010). Mais depuis une dizaine d'année, *V. aestuarianus* est une préoccupation majeure car elle est associée à des évènements de mortalité touchant les huîtres à taille commerciale ce qui engendre de fortes pertes économiques pour l'industrie ostréicole (Dégremont et al., 2020).

Vibrio aestuarianus

- *Distribution*

C'est en 1983 dans l'Oregon au Etats-Unis que pour la première fois a été isolée *Vibrio aestuarianus* issue d'échantillons d'eau de mer, de sédiments et de diverses espèces marines, sans caractériser sa pathogénicité (huîtres, crabes, palourdes) (Tison and Seidler, 1983).

En France, *V. aestuarianus* a été détectée chez des huîtres dès 2001 le long des côtes atlantiques et dans leur environnement lors d'épisodes de mortalités. Auparavant limitée à la France, cette bactérie a été détectée au fil du temps dans l'ensemble des pays européens dans différentes régions côtières (Mesnil et al., 2022) (Figure 12) comme en mer Baltique (Eiler et al., 2006), en Espagne (Montes et al., 2003), en Irlande (Coyle et al., 2023) ainsi qu'en Asie (Wang et al., 2006). Au cours de la période 2010-2011, plusieurs espèces de *Vibrio*, dont *V. splendidus*, *V. aestuarianus* et *V. alginolyticus*, ont été identifiées en association avec des épidémies d'huîtres en Nouvelle-Zélande (Keeling et al., 2014).

Deux sous-espèces différentes ont été définies : *V. aestuarianus subsp. aestuarianus* pour les souches américaines et *V. aestuarianus subsp. francensis* pour les souches françaises (Garnier et al., 2008). Depuis 2012 une augmentation conséquente de la fréquence des mortalités des

huîtres est observée au stade adulte (Travers et al., 2015) (Figure 12). L'étude de la diversité de souches isolées chez ces huîtres montre qu'elles se regroupent en deux lignées quasi clonales (clades A et B), alors que les souches isolées chez des animaux sains, huîtres, coques ou de zooplancton se révèlent plus diverses (Goudenège et al., 2015).

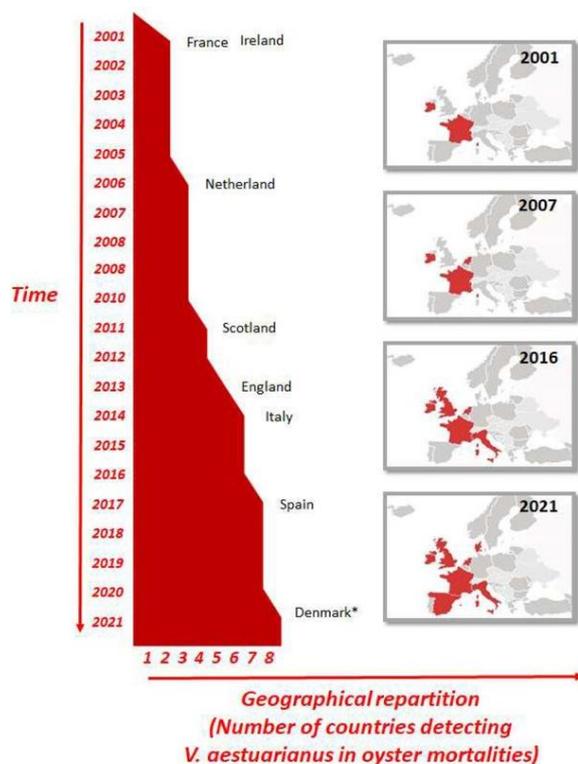


Figure 12: Expansion européenne de *V. aestuarianus francensis* d'après Mesnil et al. (2022)

- Infection

Bien que les connaissances sur l'infection de *C. gigas* par *V. aestuarianus* soient limitées, les symptômes principaux sont une faiblesse musculaire avec une difficulté croissante à fermer les valves sans qu'il y ait de signe apparent sur la coquille. L'incapacité des huîtres à se refermer est généralement considérée comme un signe de mort. L'analyse histologique révèle une dégradation plus ou moins étendue de tous les tissus, avec des nécroses plus prononcées du muscle adducteur et des tissus environnants. La partie translucide du muscle est plus affectée que la partie blanche. Les fibres musculaires apparaissent désorganisées et nécrosées de manière dispersée, sans infiltration notable d'hémocytes et de larges brèches

claires sont visibles dans des foyers de condensation des fibres musculaires. Chez certains individus, une atrophie sévère des diverticules digestifs est également observée (Garnier et al., 2007).

Les mécanismes de virulence de *V. aestuarianus* sont mal connus, mais plusieurs facteurs potentiels ont été identifiés. Des composés extracellulaires d'une souche de *V. aestuarianus* altèrent les capacités immunitaires des huîtres en réduisant leur capacité d'adhérence et de phagocytose, ainsi que leur métabolisme oxydatif (Labreuche et al., 2006b, 2006a). Ces composés extracellulaires contiennent une métalloprotéase zinc-dépendante appelée Vam, qui altère les fonctions hémocytaires des huîtres (Labreuche et al., 2010). Les protéases extracellulaires sont fréquentes chez les espèces de *Vibrio* et jouent probablement un rôle important dans la progression de la maladie. Bien que la virulence des souches de *V. aestuarianus* soit liée à leur capacité à produire des protéines de type métalloprotéase, ce gène est également présent chez des souches non virulentes, suggérant qu'il n'est pas exprimé dans certaines conditions. L'expression de la métalloprotéase Vam est régulée en partie par des mécanismes de quorum sensing dépendant du stade de croissance, ainsi que par le gène *varS*, qui code pour une protéine histidine-kinase de transduction du signal. Le rôle de ce gène dans la virulence a été validé génétiquement et mis en évidence grâce à une unique mutation dans ce gène chez une souche non virulente qui aboutit à l'expression d'une protéine non fonctionnelle (Goudenège et al., 2015 ; Travers et al., 2015).

- *Transmission de la maladie*

V. aestuarianus peut infecter *C gigas* à tous les âges post larvaires et la bactérie a été détectée à tous les stades de développement (Barbosa Solomieu et al., 2015). Toutefois, les juvéniles et les adultes semblent plus sensibles à l'infection bactérienne que le naissain (Azéma et al., 2017a). Les taux de mortalité observés en conditions expérimentales étaient deux fois moindre qu'en condition d'exposition à *V. aestuarianus* non contrôlée (Azéma et al., 2017a).

En condition expérimentale, l'infection d'huîtres par immersion dans de l'eau de mer contaminée par une culture de *Vibrios* est souvent complexe, ce qui nécessite l'injection de bactéries dans le muscle adducteur de l'huître pour explorer leur virulence, s'affranchissant des premières barrières physiques. Cette méthode est donc limitée pour étudier les gènes de virulence impliqués dans l'infection par voie naturelle (Le Roux et al., 2016). Toutefois des

études récentes ont montré la possibilité d'infecter des huîtres par *V. aestuarianus* en conditions expérimentales par balnéation (Lupo et al., 2019) ainsi que par cohabitation avec injection d'une suspension de *V. aestuarianus* dans le muscle d'huîtres « donneuses », permettant l'excrétion dans l'eau environnante des bactéries capables d'infecter des animaux sains par voie naturelles et de causer des mortalités de manière reproductible (Parizadeh et al., 2018).

En laboratoire, le temps de génération de *V. aestuarianus* est compris entre de 60 min et 5 jours à 20°C. La persistance de *V. aestuarianus* dans l'eau de mer est inférieure à 5 jours, quelles que soient les conditions de température et de salinité (Lupo et al., 2019 ; Vezzulli et al., 2015). Le taux d'excrétion des bactéries, bien qu'il montre une grande variabilité individuelle, a été estimé à $7,2 \times 10^4$ bactéries/mL d'eau de mer par huître et par jour, mesuré dans des contenants de 300mL individuels après contamination par immersion (Lupo et al., 2019).

- *Facteurs de virulence*

Les différentes souches de *V. aestuarianus* présentent une diversité phénotypique en terme de virulence. En France, depuis 2012, la bactérie est détectée plus fréquemment dans des animaux prélevés lors d'épisodes de mortalité (Azéma et al., 2017a ; Dégremont et al., 2015a). L'augmentation des mortalités d'adultes liées à la détection de *V. aestuarianus* peut être liée à l'émergence d'une nouvelle souche plus virulente avec des modifications génomiques. Selon l'étude menée par Goudenège et al. (2015), il n'y avait pas de différence de virulence entre les souches isolées récemment et celles isolées antérieurement, ce qui remet en question cette hypothèse. Cependant, une analyse de 54 génomes de *V. aestuarianus* a été réalisée pour étudier les caractéristiques génétiques des souches isolées depuis 2001 dans différents compartiments environnementaux, avec ou sans mortalité de bivalves. Les faibles taux de mutation et de recombinaison observés pourraient avoir sélectionné des génotypes virulents particuliers. De plus, les chercheurs ont identifié un îlot génomique spécifique contenant des gènes *cus-cop* qui confèrent une résistance au cuivre à *V. aestuarianus*. L'acquisition de cet îlot génomique pourrait avoir favorisé l'émergence de lignées pathogènes virulentes adaptées aux huîtres (Mesnil et al., 2022). Une hypothèse alternative serait que les huîtres présenteraient des altérations physiologiques, aboutissant à une plus grande

sensibilité des animaux à l'infection par *V. aestuarianus*, lesquelles pourraient résulter de facteurs environnementaux (sensibilité acquise), de trade-off génétiques (sensibilité intrinsèque) ou d'une combinaison de ces deux hypothèses (Barbosa Solomieu et al., 2015).

La température est un élément important à considérer lors d'évènements de mortalité. Une modélisation épidémiologique spatiale de l'infection par *V. aestuarianus* montre que la température contrôle la mortalité des huîtres (Lupo et al., 2019). Des températures élevées peuvent indirectement favoriser la probabilité d'infection des huîtres. D'une part, la sensibilité des huîtres à l'infection par *V. aestuarianus* peut augmenter avec la température avec jusqu'à 25 fois plus de probabilité de contracter une infection avec une température élevée. D'autre part, la mortalité liée aux bactéries peut être accrue, à cause d'une charge infectieuse plus élevée. Parizadeh et al. (2018) ont décrit une limitation de la température de transmission de *V. aestuarianus* à environ 10°C. Bien sûr, le statut physiologique des huîtres influence aussi la capacité de résistance lors d'une infection. Avant la période de reproduction, lorsque l'huître entre en gamétogénèse, la majeure partie des réserves en glycogène est monopolisée, détournant les ressources nécessaires au système immunitaire pour son bon fonctionnement (De Decker et al., 2011 ; Huvet et al., 2010). De plus, il a été constaté une baisse de l'activité phagocytaire et de la capacité d'adhésion des hémocytes d'huîtres pendant la saison de reproduction (Gagnaire et al., 2006).

Les bactéries du genre *Vibrio*, et en particulier *V. aestuarianus*, représentent une préoccupation majeure pour l'industrie ostréicole. Cependant, elles ne sont pas les seuls microorganismes à avoir un impact sur la production, car les virus jouent également un rôle significatif.

2.6.2.3.2 Virus pathogènes

Les virus peuvent présenter un risque pour la santé humaine mais également causer des mortalités significatives chez les mollusques. Cependant, peu d'entre eux sont bien caractérisés (Arzul et al., 2017). La plupart des informations disponibles concernent les *Herpesviridae*, notamment l'Ostreid Herpes Virus de type 1 (OsHV-1).

OsHV-1

- *Distribution*

En 1972, aux États-Unis, des chercheurs ont détecté pour la première fois un virus de type herpès associé à la mortalité d'huîtres adultes *C. virginica* lors d'une expérience de stress thermique (Farley et al., 1972). Ce virus a été soupçonné d'être la cause d'épisodes de mortalité importants observés dans des éclosiers de larves de *Crassostrea gigas* en Nouvelle-Zélande et en France en 1991 (Hine et al., 1992 ; Nicolas et al., 1992). En 1995, un virus a été isolé à partir de larves infectées provenant d'éclosiers françaises (Le Deuff and Renault, 1999 ; Renault et al., 1995) et son génome a été séquencé en 2005 (Davison et al., 2005). Ce virus à ADN a été classé dans la famille des Malacoherpesviridae, dans l'ordre des Herpesvirales et nommé Ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) en raison de ses caractéristiques structurales et génomiques (Davison, 2002 ; Davison et al., 2005). Comme les autres virus de l'ordre des Herpesvirales, il est composé d'un double brin d'ADN, d'une capsid d'un diamètre entre 70 nm et 140 nm et d'une enveloppe.

Les épisodes de mortalité importants se sont intensifiés en France depuis 2008. Ils affectent les jeunes huîtres âgées de moins d'un an lorsque la température de l'eau de mer dépasse 16°C (Pernet et al., 2012 ; Petton et al., 2013). Cette mortalité est causée par l'émergence d'un nouveau variant du virus nommé OsHV-1 μ Var (Segarra et al., 2010), qui a maintenant été détecté à l'échelle mondiale.

Le virus a été détecté en Europe, notamment en France (Martenot et al., 2011 ; Renault et al., 1994 ; Segarra et al., 2010), en Espagne (Barbosa Solomieu et al., 2015 ; Roque et al., 2012 ; Silva et al., 2008), en Grèce et en Irlande du Nord (Peeler et al., 2012 ; Silva et al., 2008), en Italie (Dundon et al., 2011), en Grande-Bretagne (Lynch et al., 2012), aux Pays-Bas (Gittenberger et al., 2016), au Portugal (Batista et al., 2015), en Suède et en Norvège (Mortensen et al., 2016). Le virus a également été détecté en Amérique, notamment aux États-Unis (Burge et al., 2006 ; Friedman et al., 2005), au Mexique (Vasquez-Yeomans et al., 2004), au Brésil (Mello et al., 2018) et en Argentine (Barbieri et al., 2019). En Asie, le virus a été détecté au Japon (Shimahara et al., 2012), en Chine (Bai et al., 2015) et en Corée du Sud (Hwang et al., 2013). Enfin, il a été détecté en Océanie, notamment en Nouvelle-Zélande (Hine et al., 1992), en Australie (Paul-Pont et al., 2014).

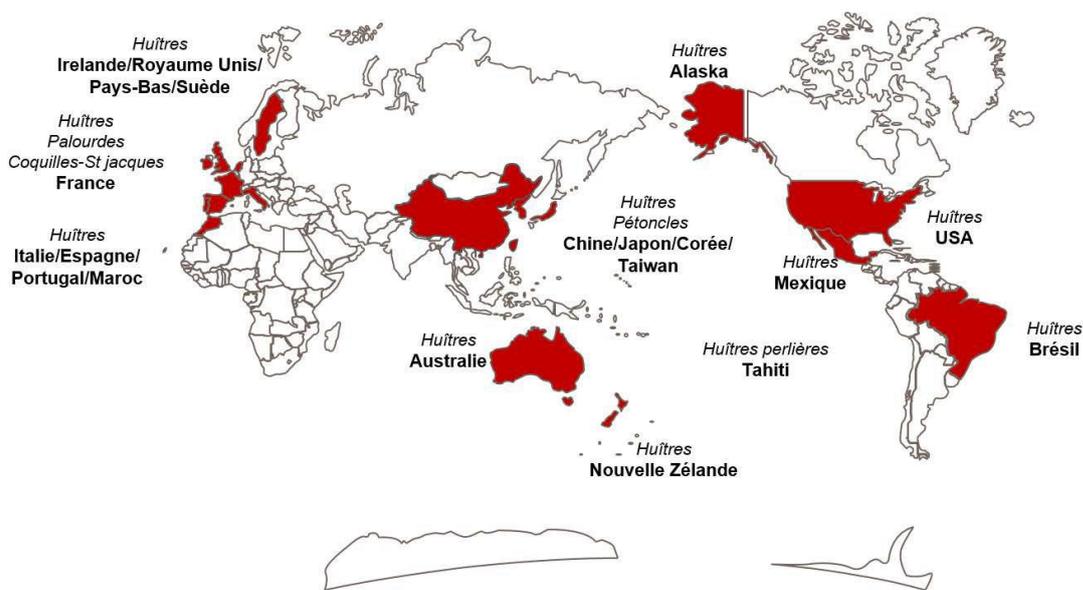


Figure 13: Répartition mondiale d'OsHV-1 (Segarra, 2014)

- *Infection*

L'infection des huîtres par OsHV-1 induit des mortalités importantes et rapides : les premières mortalités apparaissent entre 72h et 96h chez les huîtres infectées par cohabitation. L'infection s'accompagne d'une diminution de la filtration, les animaux sont peu réactifs aux stimuli mécaniques et ferment difficilement leur coquille (OIE, 2018). Les larves infectées montrent une réduction des activités de nage et d'alimentation (Hine et al., 1992; Nicolas et al., 1992). Les approches histologiques montrent que chez les jeunes huîtres des lésions apparaissent au niveau des tissus conjonctifs et des noyaux, où des modifications nucléaires telles que l'hypertrophie, associée à l'apoptose, sont des signes d'infection à OsHV-1 (Arzul et al., 2017).

Le virus OsHV-1 entre rapidement dans les tissus des huîtres et induit rapidement la réplication virale, ciblant principalement les hémocytes (Martenot et al., 2017 ; Morga et al., 2017). Des protéines virales sont détectées dans les branchies, le manteau et la glande digestive dès deux heures après l'infection par injection, et l'expression des gènes viraux codant pour des inhibiteurs de l'apoptose est détectée deux heures après le début de l'infection (Segarra et al., 2014a). Cette expression précoce de gènes viraux suggère qu'OsHV-

1 est capable de moduler les processus apoptotiques de l'hôte (Jouaux et al., 2013 ; Martenot et al., 2017 ; Segarra et al., 2014a). La majorité des gènes viraux sont traduits dès 18 heures après l'infection, et des protéines virales sont détectées dans la majorité des tissus de l'huître à partir de 28 heures après l'infection, à l'exception des gonades (Martenot et al., 2016).

Lors d'évènements de mortalités impliquant OsHV-1, le virus est capable d'infecter à la fois les huîtres sensibles et résistantes issues d'un programme de sélection expérimentale (voir Chapitre 1, section 3.4 pour les notions de sélection) avec une réplication intense dans les huîtres sensibles. Les huîtres résistantes sont capables d'une réponse antivirale précoce alors que les huîtres sensibles réagissent fortement mais tardivement, ce qui les rend incapables de contrôler la réplication virale. Les huîtres résistantes sont capables de répondre efficacement à l'infection virale par l'induction de gènes antiviraux et d'effecteurs impliqués dans les voies de signalisation antivirale (de Lorgeril et al., 2018). La même étude suggère que le virus OsHV-1 pourrait se répliquer intensivement dans les huîtres sensibles en empêchant les mécanismes d'apoptose par des processus anti-apoptotiques endogènes et exogènes.

- *Transmission de la maladie*

Les herpes OsHV-1 sont des virus qui infectent naturellement plus de 20 espèces de mollusques et sont associés à des épisodes de mortalités chez au moins 7 de ces espèces (Alfaro et al., 2019), dont l'huître plate européenne (Renault et al., 2000), la palourde japonaise (*Ruditapes philippinarum* ; Renault and Arzul, 2001), la coquille Saint-Jacques (*Pecten maximus* ; Arzul et al., 2001a), l'huître portugaise (*Crassostrea angulata* ; Batista et al., 2015), la palourde (*Scapharca broughtonii*), le pétoncle chinois (*Chlamys farrieri* ; Bai et al., 2015 ; Xia et al., 2015) et l'huître du Pacifique. Pour les autres espèces, il n'est pas encore connu si elles sont simplement des porteurs passifs/asymptomatiques du virus ou si elles peuvent être affectées par des infections virales entraînant des événements de mortalité élevés (Alfaro et al., 2019).

Tous les stades de développement peuvent être touchés par des mortalités par OsHV-1 bien que les huîtres adultes naïves présentent des mortalités moindres que les autres classes d'âges lors des épisodes de mortalités (Azéma et al., 2017a). La transmission du virus peut se produire dès le stade larvaire, y compris entre différentes espèces (Arzul et al., 2001c, 2001b). La détection d'ADN viral chez des animaux adultes, apparemment sains, suggère que les

adultes pourraient être une source d'infection pour les groupes d'âges les plus sensibles, lorsque des facteurs favorisant le développement de l'infection sont présents (Arzul et al., 2002). Ces porteurs sains sont donc susceptibles de permettre à l'infection de persister et peuvent transmettre la maladie à l'occasion de conditions adéquates comme démontré expérimentalement par Dégremont et al. (2013)

La transmission chez les huîtres *C. gigas* est horizontale entre les individus du même âge ou d'âges différents, et la quantité d'ADN viral détectée dans les animaux moribonds est fortement corrélée aux mortalités observées. La transmission verticale, par l'intermédiaire des gamètes, a été démontrée chez *C. angulata* (López Sanmartín et al., 2016), et est donc possible chez *C. gigas* mais semble peu probable et reste à être démontrée (Barbosa-Solomieu et al., 2005 ; Trotter et al., 2021). Les transferts de mollusques marins destinés à l'aquaculture sont considérés comme une des raisons principales de l'expansion géographique des herpes virus à travers le monde (Dégremont and Benabdelmouna, 2014 ; Delmotte, 2021).

L'eau est la principale voie de transmission d'OsHV-1 entre différents individus (Paul-Pont et al., 2013 ; Sauvage et al., 2009 ; Schikorski et al., 2011). Le maintien d'huîtres saines dans de l'eau de mer ayant contenu des huîtres infectées suffit à induire une infection virale et la mort (Fuhrmann et al., 2016). En conditions expérimentales, dans de nombreuses études, les huîtres sont infectées par l'injection directe d'une suspension virale dans le muscle adducteur, permettant principalement de synchroniser l'infection entre les animaux étudiés et de standardiser la dose virale injectée. Cependant, cette méthode s'affranchit des voies naturelles d'entrée du virus dans son hôte et ses barrières biologiques et physiques qui s'opposent à l'infection virale. L'injection d'une suspension virale est donc peu représentative de l'infection en milieu naturel. Plus récemment, Petton et al. (2019) ont permis de déterminer des paramètres de transmission d'OsHV-1 et de bactéries *Vibrio* associées lors d'une expérimentation de cohabitation en laboratoire, pendant laquelle des huîtres infectées en mer (donneuses) ont été mises en cohabitation avec des animaux sains (receveurs). Les résultats ont montré qu'il suffit d'1h30 de cohabitation pour détecter l'ADN viral et induire des mortalités chez les huîtres receveuses. La quantité d'ADN viral dans l'eau de mer atteint son maximum dès 48 heures de cohabitation et devient nulle après environ 170 heures. Les mortalités des receveurs augmentent avec le temps d'exposition aux donneurs selon une

relation dose-réponse. Les mortalités des receveurs surviennent environ 4 jours après le début de la cohabitation et se stabilisent après 5-6 jours pour atteindre son maximum à 7-8 jours.

- *Facteurs de virulence*

Depuis l'étude de l'existence d'une diversité génétique chez OsHV-1 μ Var en 2010 (Segarra et al., 2010), la question se pose des conséquences de cette diversité sur les épisodes de mortalité chez *C. gigas*. Différentes populations virales (issues d'environnements infectieux différents) peuvent exister en fonction des capacités à s'adapter à leur hôte au bénéfice de mutations. Ainsi, des populations virales distinctes d'OsHV-1 dans deux environnements infectieux distincts ont pu être observées. De plus, dans chaque environnement, des populations virales distinctes ont été associées à différentes familles d'huîtres (Delmotte et al., 2020).

En plus des facteurs liés à l'environnement comme la pollution, la salinité et des facteurs de stress comme le transport ou la manutention, les épidémies liées à OsHV-1 et ses variantes sont très associées à une augmentation soudaine de la température de l'eau ou à une température supérieure à 16°C en Europe (Clegg et al., 2014 ; Pernet et al., 2015 ; Renault et al., 2014), tandis qu'en Australie, les mortalités sont principalement observées à des températures supérieures à 18 ou 19°C (Evans et al., 2017). En Europe, les épisodes de mortalité commencent généralement dans le sud et se déplacent vers le nord, correspondant à un gradient de température le long des côtes françaises en été (Garcia et al., 2011). Pour ce qui est de la méditerranée, dans la lagune de Thau des mortalités d'huîtres creuses se produisent lorsque la température de l'eau est comprise entre 17°C et 24°C, cela indique que le virus reste actif et induit des mortalités, même à des température atteignant les 24°C (Pernet et al., 2012).

Les infections expérimentales en laboratoire ont également montré l'influence de la température dans l'apparition de la maladie, bien que la notion d'un seuil de température spécifique soit difficile à définir avec précision car le virus peut se répliquer et être transmis à des températures inférieures à 16°C. Cependant, en dessous de 13°C, la transmission du virus semble nulle et le virus n'est plus détecté après 40 jours à ces températures, suggérant que les faibles températures pourraient limiter l'infection virale (Petton et al., 2013). Des travaux

complémentaires ont également montré que l'ADN d'OsHV-1 persiste dans les huîtres à faible température, et que le virus peut être réactivé après élévation de la température à 21°C (Pernet et al., 2015).

2.6.2.3.3 Maladie polymicrobienne

Outre OsHV-1 et *V. aestuarianus*, ce sont souvent plusieurs espèces différentes de microbe qui sont détectés lors d'évènements de fortes mortalités. Par exemple, Bruto et al. (2017) ont caractérisé la structure de la population des espèces de *Vibrio* trouvées pendant un épisode de mortalités en utilisant des naissains d'huîtres exempts d'agents pathogènes et des approches basées sur le terrain. Différentes bactéries du clade *Splendidus* ont systématiquement été isolées dans les huîtres malades, par exemple *Vibrio tasmaniensis*, *V. splendidus*, *V. cyclitrophicus*, *V. crassostreae* mais aussi *V. harveyi* et *V. aestuarianus* (Bruto et al., 2017 ; Saulnier et al., 2010). Les souches non virulentes de *Vibrio* jouent également un rôle significatif dans le développement de la maladie (Lemire et al., 2015 ; Petton et al., 2015). Des études ont montré que ces souches non pathogènes sont présentes en grand nombre dans les huîtres naturellement infectées et qu'elles sont progressivement remplacées par des souches virulentes à mesure que la maladie progresse. De plus, la présence de bactéries non virulentes exerce une influence significative sur la virulence d'une souche de *Vibrio sp.* virulente, même à faible dose (Petton et al., 2015). C'est également ce qui a été observé avec la coopération entre différentes souches de *Vibrio* pouvant augmenter leur virulence lorsqu'elles sont injectées chez l'hôte (Gay et al., 2004). Des interactions additives ou synergiques entre les souches bactériennes peuvent ainsi contribuer à l'augmentation de la mortalité des huîtres en renforçant la virulence.

De telles interactions ne sont pas limitées simplement aux bactéries puisqu'elles ont aussi été observées entre le virus OsHV-1 et des bactéries. En effet, depuis plusieurs années, la co-détection d'OsHV-1 et différentes espèces de bactéries dont des *Vibrios* ou du clade *Splendidus* a été observée. Certaines études ont montré que les mortalités sont plus importantes en présence de *Vibrio* lors d'infections expérimentales à OsHV-1 (Azéma et al., 2016 ; Petton et al., 2015). Il est donc possible que cette association soit la cause des fortes mortalités observées en France depuis 2008. L'acronyme POMS (Pacific Oyster Mortality

Syndrome) est régulièrement utilisé pour définir ces mortalités en masse (Paul-Pont et al., 2013). Des études ont montré que le risque d'épidémie de POMS est lié à des interactions subtiles, non seulement entre l'huître (hôte) et les agents pathogènes (polymicrobiens), mais aussi à de multiples facteurs comme la température, l'âge des huîtres, leur statut physiologique et leur fond génétique. Par conséquent, cette maladie (POMS) est considérée comme une maladie multifactorielle (Petton et al., 2021a). Récemment quelques études se sont penchées sur la composition génétique des espèces de *Vibrio* impliquées dans les mortalités massives des huîtres du Pacifique impliquant OsHV-1, afin de mieux comprendre les mécanismes de virulence impliqués dans la progression de l'infection (de Lorgeril et al., 2020, 2018 ; Delisle et al., 2022). En comparant des huîtres issues de familles sélectionnées comme sensibles et résistantes à la mortalité et en utilisant des approches moléculaires en RNAseq, métabarcoding de l'ADNr 16S ou encore de l'histologie, de Lorgeril et al. (2018) ont établi que la POMS est une maladie polymicrobienne et que la présence d'OsHV-1 est la première étape du déclenchement de l'infection. Les résultats ont montré que les huîtres résistantes étaient infectées mais que la réponse antivirale était plus rapide que sur les huîtres au phénotype sensible. La réplication virale intense observée chez les huîtres sensibles est donc nécessaire au développement de la maladie. Le virus attaque les cellules immunitaires (hémocytes) pour sa réplication, cela affecte leur expression d'AMP et entraîne la suppression de leur action contre les bactéries environnantes. Le développement d'une infection secondaire mortelle est de fait rendu possible par une importante modification du microbiote qui conduit à la colonisation de l'huître par des bactéries opportunistes des genres *Vibrio* ou *Arcobacter* et finalement à une septicémie (de Lorgeril et al., 2020, 2018). Cette succession d'événements conduisant à la mort des huîtres liée au POMS est illustrée dans la Figure 14.

Les maladies pouvant affecter les populations de *C. gigas* cultivées à travers le monde peuvent engendrer des pertes importantes. Le virus OsHV-1 semble jouer un rôle clé dans l'intensité des événements de mortalité. Cependant, ce n'est pas le seul facteur à prendre en compte et des paramètres comme le stress lié à l'environnement (température, salinité, pollution) et le statut reproducteur doivent être considérés pour mieux contrôler cette maladie. Enfin, la présence d'autres micro-organismes dans l'environnement peut favoriser et aggraver l'expression de la maladie. Même si les mouvements d'animaux à travers le monde sont largement responsables de la diffusion des agents pathogènes et rendent difficile

le contrôle des maladies, il est possible d'utiliser d'autres alternatives pour tenter d'y parvenir. Par exemple, l'amélioration génétique est un recours qui peut être employé grâce à des programmes de sélection pour améliorer des caractères de résistance aux maladies. Le développement et l'amélioration des modes d'élevage ont aussi été nécessaires pour rendre l'industrie ostréicole plus résiliente.

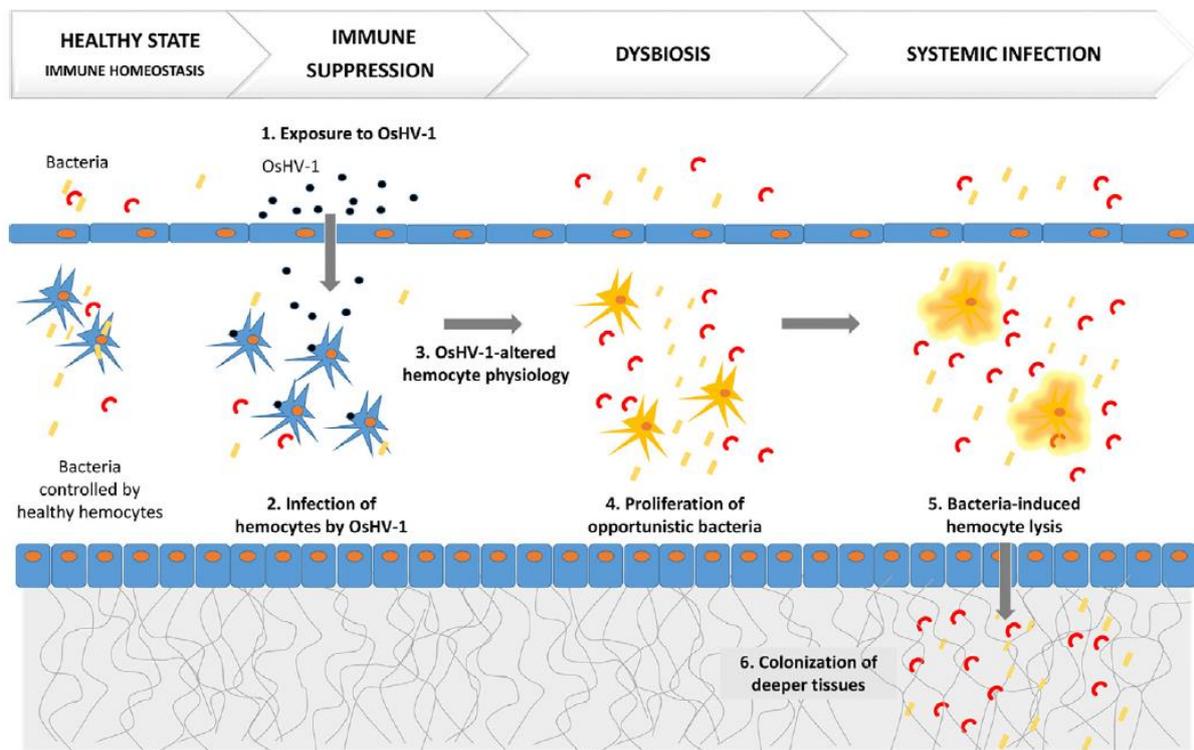


Figure 14: Succession d'étapes d'une maladie polymicrobienne chez *Crassostrea gigas* induite par une infection primaire par OsHV-1 qui altère la physiologie des hémocytes puis est suivie d'une infection bactérienne secondaire qui entraîne la mort de l'huître. Figure extraite de Petton et al., 2021

3. Amélioration génétique chez *C. gigas*

Pour améliorer la productivité ostréicole, Boudry et al. (1997) ont proposé différentes approches dont (1) l'introduction de nouvelles espèces, stratégie suivie pour *C. gigas*. Cependant il est nécessaire d'identifier les espèces appropriées et d'évaluer attentivement leur impact écologique, (2) le développement des animaux polyploïdes, (3) l'hybridation entre espèces et (4) la sélection génétique. A cela peut aussi s'ajouter les méthodes d'édition de génome.

3.1. Génome

Les mollusques possèdent une forte capacité d'adaptation et de tolérance à une large gamme de facteurs de stress, probablement dérivée de la nature sessile et filtreur de la plupart des espèces de bivalves. De plus, les bivalves ont des caractéristiques de reproduction en commun comme une fécondité élevée, leur reproduction en eau libre, un fort taux de mortalité précoce, ainsi qu'une forte variance dans le succès reproducteur. Cet ensemble de caractéristiques explique des propriétés génétiques spécifiques aux mollusques. En effet, la production de millions de gamètes pour la reproduction requiert un nombre important d'évènements méiotiques produisant ainsi des taux de mutations élevés (Plough, 2016). L'apparition d'allèles létaux est une possible conséquence des taux élevés de mutation chez les bivalves, agissant sur la viabilité des stades de vie précoces et donc conduisant à une distorsion de ségrégation (Bierne et al., 1998 ; Boudry et al., 2002 ; Launey and Hedgecock, 2001 ; Plough and Hedgecock, 2011). La distorsion de ségrégation se produit lorsqu'il y a un écart entre les fréquences observées des allèles après la méiose et celles prédites par les lois de Mendel. Les études ont montré que la distorsion de ségrégation, ainsi qu'un déficit de génotypes hétérozygotes par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg (HWE), sont courants chez les bivalves et peuvent être dus à des allèles délétères qui conduisent à une sélection précoce pendant le stade larvaire, ce qui est appelé "sélection de viabilité" (Hollenbeck and Johnston, 2018). Cette grande diversité génétique ainsi que les nombreuses séquences d'ADN répétées décrites chez les mollusques (entre ~10% et 70% du génome) ont longtemps mis à l'épreuve la possibilité d'assembler les génomes de ces espèces (Gomes-dos-Santos et al., 2020 ; Houston et al., 2020 ; Regan et al., 2021). Par exemple, pour le séquençage du génome de *C. gigas*, quatre générations d'accouplements entre frères et sœurs ont été nécessaires pour éliminer environ la moitié du polymorphisme (Zhang et al., 2012). Cela explique pourquoi, si l'on considère que les Mollusques sont le deuxième embranchement le plus riche en espèces, le nombre d'assemblages disponibles est encore très faible, représentant seulement ~ 0,04% des espèces décrites dans l'embranchement (Gomes-dos-Santos et al., 2020).

Avec l'avancée des techniques et des outils de séquençage du génome, il est de plus en plus courant de réaliser des assemblages de génomes entiers d'espèces de bivalves cultivées. Ce phénomène s'est particulièrement intensifié ces dernières années, en raison notamment de

la baisse des coûts associés à ces techniques. C'est le cas de l'huître perlière (*Pinctada fucata* ; Du et al., 2017), du pétoncle japonais (*Patinopecten yessoensis* ; Wang et al., 2017), du pétoncle chinois (*Chlamys farreri* ; Y. Li et al., 2017), de l'huître américaine (*Crassostrea virginica* ; Gómez-Chiarri et al., 2015), de la moule méditerranéenne (*Mytilus galloprovincialis* ; Murgarella et al., 2016), de « Sydney rock oyster » (*Saccostrea glomerata* ; Powell et al., 2018) et de la palourde japonaise (*Ruditapes philippinarum* ; Mun et al., 2017). En 2020, le nombre d'études décrivant des assemblages partiels ou complets de génomes de mollusques s'élevait à 33 (Gomes-dos-Santos et al., 2020). Pour ce qui est de l'huître du Pacifique, elle possède 10 paires de chromosomes, sans aucun chromosome sexuel identifié (Ahmed and Sparks, 1967 ; Thiriot-Quievreux, 1984). En 2012, ce fut le premier génome de mollusque très polymorphe à être séquencé et assemblé (Zhang et al., 2012). L'assemblage comprenait une taille estimée de 559 mégabases (Mb) avec une taille de contig N50 de 19,4 kilobases (kb) et une taille de scaffold N50 de 401 kb. L'annotation du génome a permis de prédire 28 027 gènes dont 96,1 % ont une activité de transcription. Le génome est riche en séquences répétées (36% du génome total) et est très polymorphe, avec 1,3 % d'hétérozygotie, ce qui est plus que dans la plupart des génomes animaux étudiés (Zhang et al., 2012). Plus récemment, en 2021, ce sont deux nouveaux génomes de référence de l'huître du Pacifique au niveau chromosomique qui ont été publiés. Le premier a une taille finale de 586,8 Mb (Qi et al., 2021) avec une annotation de 30 078 gènes codant des protéines. Le second a une taille de 647 Mb, une taille de scaffold N50 de 58,4 Mb et une taille de contig N50 de 1,8 Mb et 30 724 gènes codant des protéines ont été identifiés (Peñaloza et al., 2021). Dans cette version, le nombre de séquences répétées est encore plus important, représentant 43% du génome et à la différence de la première version du génome, celle-ci n'a pas utilisé d'individu consanguin pour le séquençage, ce qui explique un taux d'hétérozygotie plus élevé avec 3,2%. En plus de fournir des informations fondamentales sur les caractéristiques biologiques des mollusques, les avancées des connaissances sur le génome avec les cartes génétiques sont essentielles pour l'industrie de l'ostréiculture afin de mieux comprendre la distribution des marqueurs dans le génome et de développer des outils moléculaires pertinents pour la sélection des caractères économiquement intéressants.

3.2. L'édition du génome

L'objectif de l'édition du génome consiste à modifier la séquence d'ADN d'une cellule de façon ciblée à l'aide de nucléases, également appelées "ciseaux moléculaires", ainsi que de divers systèmes de réparation de l'ADN. Cela permettrait (Houston et al., 2020) une fixation rapide d'allèles favorables à des régions génomiques en ségrégation au sein de populations sélectionnées. De plus, cela pourrait faciliter l'introgression d'allèles favorables provenant d'autres populations, de souches ou d'espèces, y compris potentiellement des populations sauvages, au sein d'une population sélectionnée. Enfin, cela ouvrirait la possibilité de créer de nouveaux allèles en se basant sur la connaissance de la biologie du trait en question.

Même si l'approche d'édition du génome par CRISPR-Cas9 a été appliquée sur plusieurs espèces de poissons et de mollusques pour de la délétion de gènes, cela relève plus de la preuve de principe et n'est pas encore appliqué dans des programmes de sélection aquacole (Gratacap et al., 2019). Cela est dû à quelques obstacles techniques qui restent à mieux maîtriser comme les effets « off-target » qui provoquent une modification non spécifique et involontaire du génome et peuvent avoir des effets involontaires sur l'organisme, mais encore réduire le problème du mosaïcisme dans la génération F0. Enfin il y a d'autres obstacles concernant l'acceptation par le grand public et les autorités réglementaires.

Les moyens les plus largement développés et appliqués dans le but d'améliorer la génétique dans la production ostréicole restent encore le recours à la polypléidie et aux programmes de sélection.

3.3. Polypléidie

Le terme polypléide qualifie les individus ou les cellules qui présentent plus de deux lots haploïdes de chromosomes ($>2n$) (Comai, 2005). C'est un processus naturel fréquemment rencontré chez les végétaux comme la pomme-de-terre, le coton, le blé, ou encore le tabac. Chez les animaux en revanche, la polypléidie est moins présente naturellement mais a pu être induite expérimentalement sur plusieurs espèces de poissons et de mollusques. L'induction de la polypléidie perturbe plusieurs processus biologiques essentiels liés au nombre de chromosomes, au niveau de la division cellulaire (mitose et méiose), de l'organisation du

génomique et de l'expression génique. Ces changements peuvent expliquer les différences phénotypiques observées entre les individus diploïdes et polyploïdes au sein d'une espèce. L'induction de la polyploïdie a souvent montré des modifications des phénotypes vers un meilleur rendement des populations d'élevage. Aussi, la gamétogénèse qui requiert une forte mobilisation énergétique chez les animaux nuit aux autres performances comme la croissance ou la résistance aux maladies. En passant à un état triploïde, la gamétogénèse est fortement réduite rendant les animaux très peu fertiles mais bénéficiant d'une réallocation énergétique vers d'autres processus biologiques et physiologiques (Normand et al., 2009). Un avantage de la production d'animaux stériles en production animale et surtout pour des animaux élevés en milieu ouvert est d'empêcher la dissémination vers les populations sauvages mais aussi la protection du progrès génétique pour des caractères d'intérêt de populations sélectionnées.

Les bénéfices économiques de la triploïdisation sont donc importants et ont été largement utilisés chez les mollusques dont *C. gigas* (Piferrer et al., 2009). La production d'huîtres triploïdes a commencé sur la côte ouest des États-Unis d'Amérique en 1985 (Allen and Downing, 1986). L'arrivée en France s'est faite à la fin des années 1990 par le biais d'IFREMER qui mettait à disposition des éclosiers des huîtres tétraploïdes mâles qui étaient ensuite croisées avec des femelles diploïdes pour produire des huîtres triploïdes (Nell, 2002).

Différentes méthodes d'induction de la triploïdie chez les huîtres peuvent être utilisées. Le principe est à chaque fois d'empêcher l'expulsion de l'un des deux globules polaires au cours de la méiose soit lors de la première réduction chromosomique soit lors de la seconde réduction. Pour ce faire, des cytobloquants sont utilisés comme la cytochalasine-B ou le 6-Diméthylaminopurine (6-DMAP). D'autres méthodes existent en s'appuyant sur une triploïdisation spontanée par des chocs de pression ou de température successifs. Ces méthodes ont de nombreux inconvénients comme des taux d'induction très variables et des forts taux de mortalité larvaire.

Ainsi d'autres méthodes de production d'huîtres triploïdes se sont développées comme le croisement d'individus tétraploïdes fertiles avec des individus diploïdes (Guo et al., 1996). C'est la méthode de production de triploïdes la plus utilisée aujourd'hui car elle présente l'avantage d'une survie larvaire bien supérieure aux méthodes d'induction, ainsi qu'une plus grande homogénéité et stabilité chromosomique. Les lignées de géniteurs tétraploïdes peuvent être obtenues en utilisant des agents cytobloquants, provoquant la rétention du

premier globule polaire lors du croisement entre une femelle triploïde et un mâle diploïde (Guo and Allen, 1994), ou provoquant la rétention du deuxième globule polaire lors du croisement entre un mâle tétraploïde et une femelle diploïde (McCombie et al., 2005). Il existe également une autre méthode d'induction d'huîtres tétraploïdes à partir d'un croisement entre un mâle diploïde et une femelle diploïde en empêchant l'expulsion du globules polaires 1 (Benabdelmouna et Ledu, 2015), ce qui permettrait de transférer plus facilement le progrès génétique d'une ligné élite diploïde à des animaux triploïdes.

La fiabilité de production acquise par croisement $4n \times 2n$ ainsi que les bonnes performances de croissances comparées aux huîtres diploïdes (Allen and Downing, 1986 ; Nell, 2002) ont permis aux écloseries d'augmenter la distribution des huîtres triploïdes aux ostréiculteurs. De plus, l'absence de développement gonadique supprimant l'aspect laiteux et permettant la vente en période de reproduction des huîtres diploïdes a également été un argument pour le développement de cette amélioration génétique. Cette disponibilité d'huîtres non laiteuses l'été (parfois appelées « huitres des 4 saisons ») a induit une véritable transition du marché, qui était auparavant dominé par les fêtes de fin d'année, mais qui est maintenant de plus en plus impacté par les ventes estivales.

L'effet de la ploïdie sur les mortalités de *C. gigas* donne des résultats divergents comme démontré dans une revue (Dégremont et al., 2015a). Ainsi, les études menées par Garnier-Géré et al. (2002) et celle d'Ibarra et al. (2017) ont indiqué un taux de mortalité identique au sein des populations diploïdes et triploïdes suivies. L'effet de la triploïdisation sur la résistance aux maladies chez *C. gigas* est relativement peu étudié. Il semblerait ne pas avoir d'effet du niveau de ploïdie sur la résistance à OsHV-1 (Dégremont et al., 2016), même si récemment des mortalités estivales plus élevées ont été observées sur des huîtres triploïdes en Normandie (Houssin et al., 2019) et au Brésil (Melo et al., 2020). Il est cependant fort probable que le fond génétique des animaux et les différents sites étudiés dans chaque étude par l'influence environnementale aient joué un rôle important dans ces différences de mortalité (Melo et al., 2020). Cependant, des challenges expérimentaux face à *V. aestuarianus* ont mis en évidence des taux de mortalités supérieurs pour les huîtres triploïdes comparés à ceux des huîtres diploïdes (Azéma et al., 2016). Il semble donc difficile de conclure et de généraliser sur l'effet de la polyploïdisation sur la résistance ou la sensibilité aux maladies. Cependant,

comme énoncé précédemment, il existe d'autres méthodes pour l'amélioration génétique des populations d'huîtres comme la mise en place de programme de sélection.

3.4. Les différentes méthodes de sélection génétique

L'amélioration génétique par le biais de la sélection a commencé de manière empirique dès le début de l'agriculture par la domestication d'espèce animales et végétales comprenant des caractères favorables à leur culture/élevage. Ces caractères peuvent être de plusieurs ordres selon les espèces. Les premières sélections ont été basées sur des critères tels que les caractères anatomiques (taille, couleur), fonctionnels (rendement, âge à maturité), physiques (force, efficacité) ou comportementaux (aptitude social).

Dans le domaine de l'aquaculture, les débuts officiellement enregistrés de la sélection génétique remontent aux années 1920, lorsqu'une sélection basée sur la résistance à la furonculose a été entreprise chez l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) (Embrey and Hayford, 1925). Grâce à quatre générations de sélection massale, le taux de mortalité était passé de 98 à 31%. L'utilisation de la sélection comme outil d'amélioration de l'efficacité biologique de la production en aquaculture est généralement plus récente et moins développée que pour la production végétale et animale terrestre. En 2012 moins de 10 % de la production aquacole était basée sur des stocks génétiquement améliorés (Gjedrem, 2012). Malgré l'expansion de la sélection génétique à un nombre croissant d'espèces (telles que le bar, la daurade, la truite et les mollusques), la plupart des espèces actuellement élevées en aquaculture demeurent étroitement liées aux populations sauvages non domestiquées. Par conséquent, il existe un potentiel considérable d'amélioration de la productivité aquacole grâce à la mise en œuvre de programmes de sélection, étant donné la grande diversité génétique présente dans les populations sauvages (Boudry, 2009). Cependant, il est important dans le cas de l'huître creuse de garder à l'esprit que c'est une espèce toujours considérée comme apprivoisée (ne dépendant pas de l'homme pour se reproduire et mise en culture dans des conditions favorables) mais non domestiquée (les populations élevées ne possèdent pas de caractères différenciés par rapport aux populations sauvages) qui n'est présente sur les côtes françaises que depuis la fin des années 1960. L'importance économique de la production ostréicole, combinée à la grande fécondité, à la variabilité génétique et au

contrôle des cycles biologiques, rendent cette espèce particulièrement propice à la mise en place de programmes de sélection. Les premiers programmes ont porté sur des caractères économiquement importants, tels que la croissance ou la résistance aux maladies. Les approches utilisées dans le domaine de la sélection génétique chez l'huître ont connu une évolution, passant de la sélection massale, à la sélection familiale, à la sélection assistée par marqueurs, et finalement à la sélection génomique (SG).

Encart 1. Les bases de la génétique quantitative

Le modèle théorique le plus utilisé pour expliquer les variations de caractères continue est le modèle polygénique additif infinitésimal. Selon ce modèle, la performance d'un individu est influencée par un grand nombre de locus ayant des effets faibles et cumulatifs. Ainsi, la valeur génétique (« breeding value ») d'un individu peut être définie comme l'effet moyen de son génotype sur un caractère spécifique, dans un environnement donné (Falconer and Mackay, 1996). La valeur génétique d'un individu est obtenue à partir de mesures de phénotypes sur des individus au pedigree connu.

La valeur d'un phénotype (P) quantitatif d'un individu peut donc être décomposé en deux facteurs qui s'additionnent : le génotype (G) et l'environnement (E) selon le modèle suivant.

$$P = G + E$$

La valeur génétique peut elle aussi se décomposer en plusieurs facteurs de telle sorte que

$$G = A + D + I$$

Avec A suivant une loi normale de variance σ_a^2 , étant la composante additive, reflétant la somme des effets moyens des allèles du père et de la mère en plus d'un aléa de méiose transmis à l'individu. Cette variabilité engendrée par l'aléa de méiose implique que deux individus issus des mêmes parents n'auront pas une valeur génétique identique. D étant la composante de dominance et I la composante d'épistasie, c'est à dire l'interaction des gènes entre eux.

D et I n'étant pas transmissible à la descendance du fait de la méiose, et A étant le seul élément héritable on peut simplifier l'équation précédente en :

$$P = A + E$$

La valeur du phénotype d'un individu est donc influencée par ces deux paramètres A et E. Pour un phénotype quantitatif donc avec de la variabilité, la variance de A est la valeur qui nous intéresse car elle permet de renseigner sur la part du phénotype qui est d'origine génétique et additive parmi la diversité phénotypique totale dans la population, c'est l'héritabilité au sens strict (h^2) (Falconer and Mackay, 1996).

On la calcule en estimant la part de variance expliquée par A par rapport à la variance phénotypique totale P.

$$h^2 = \sigma_a^2 / \sigma_p^2$$

L'héritabilité varie en 0 et 1 donc plus on est proche de 1 plus l'expression du phénotype est influencée par la part transmissible au descendant, c'est-à-dire la part de la génétique additive. Ainsi, la sélection sera plus efficace car on prédit mieux P à partir de A. La variabilité d'un phénotype résultant de l'interaction entre les composantes environnementales et la variabilité génétique d'un groupe d'individu, cela signifie aussi que l'héritabilité d'un caractère est spécifique à un environnement et à une population.

3.4.1. Les types de sélection

3.4.1.1. Sélection individuelle/massale

La sélection massale est souvent la première stratégie de sélection employée. Il s'agit d'un tri individuel en fonction d'un ou plusieurs phénotypes. Tous les meilleurs individus sont conservés pour devenir les géniteurs de la génération suivante. Ce programme de sélection a été mené pour l'amélioration de la résistance à OsHV-1 chez *C. gigas* entre 2009 et 2013 (Dégremont et al., 2015c). Ce programme expérimental de sélection a fourni de très bons résultats après 4 générations de sélection massale sur le terrain, avec un gain de survie de 10 à 15 % par génération. Il est possible d'avoir plusieurs objectifs de sélection en opérant des tris successifs. Bien que cette méthode offre l'avantage d'être très simple d'implémentation et d'utilisation, elle comporte de nombreux inconvénients. En effet, avec la sélection massale, il y a un risque de perte de diversité génétique par un manque de contrôle de la consanguinité sans la connaissance du pedigree des candidats sélectionnés. Cela entraîne une réduction du gain génétique possible sur les futures générations. Enfin, il est impossible d'améliorer un caractère qui ne peut pas être observé chez les candidats à la sélection, et il est également impossible de sélectionner des caractères dont la mesure nécessite une méthode invasive. D'autres approches sont donc nécessaires pour permettre l'amélioration génétique.

3.4.1.2. Familles séparées

En connaissant le pedigree dans une population et en s'appuyant sur les principes de la génétique quantitative il est possible de prédire une valeur génétique pour tous les individus. La connaissance de la généalogie offre aussi l'avantage de pouvoir gérer la consanguinité dans une population d'élevage en choisissant les individus à reproduire. En plus des informations de diversité génétique de la population, la maîtrise du pedigree permet d'obtenir une valeur génétique d'un groupe de candidats à la sélection sur un caractère létal en utilisant la connaissance du phénotype d'individus apparentés (sélection sur collatéraux).

En aquaculture, dont l'ostréiculture, le suivi du pedigree n'est pas aussi simple que pour les espèces terrestres. En effet un marquage physique dès la naissance peut être appliqué chez de nombreuses espèces comme le bœuf, les poules ou le porc. En revanche, cela est rendu

impossible chez les huîtres à cause de la petite taille (environ 75 μ m) et de la grande quantité de larves produites par les géniteurs (plusieurs millions). La solution la plus simple alors mise en œuvre a été l'élevage en familles séparées, à savoir, chaque famille (définie comme l'ensemble des descendants d'un couple donné) est élevée dans un bassin (puis des poches pour les huîtres) différent et cette séparation est maintenue tout au long du cycle de production. Bien que cette solution de sélection familiale sur l'huître creuse ait fait ses preuves en Australie, Nouvelle-Zélande et aux États-Unis depuis la fin des années 1990 (Hollenbeck and Johnston, 2018), elle présente quelques inconvénients. En effet, il est nécessaire d'avoir un investissement de départ très important pour mettre en place les infrastructures requises permettant l'élevage d'un nombre de familles suffisant pour maintenir une efficacité de la sélection et une diversité génétique pérennes. Les infrastructures peuvent aussi être limitées en nombre de bassins disponibles empêchant le développement de l'entreprise. Il ne faut pas non plus négliger le surplus de travail et le coût de la main d'œuvre que nécessite le maintien d'un grand nombre de familles séparées. De plus, l'inconvénient majeur de cette méthode est la confusion possible entre l'effet de l'environnement et l'effet de la famille (Kruuk and Hadfield, 2007). En d'autres termes, lors d'une évaluation génétique, la variance observée entre les familles, imputée aux différences génétiques, peut être confondue avec l'effet de l'environnement d'élevage spécifique à chaque famille et ainsi induire un biais dans les estimations de l'héritabilité et des valeurs génétiques des familles.

3.4.1.3. Utilisation des marqueurs génétiques pour la sélection

Afin d'éviter ce biais, il est possible de regrouper plusieurs familles dans le même environnement, causant la perte du suivi de pedigree. Cependant, grâce au développement d'outils moléculaires et de marqueurs génétiques, il est possible de reconstruire un pedigree a posteriori (Vandeputte and Haffray, 2014). Chez les mollusques, ce sont tout d'abord des marqueurs de type microsatellite qui ont été utilisés pour l'assignation de parenté. Ils ont l'avantage d'être très informatifs grâce au nombre élevé d'allèles qu'ils peuvent comporter (parfois plusieurs dizaines). Souvent un faible nombre de marqueurs (<10) était suffisant chez les poissons (Vandeputte and Haffray, 2014). Cependant, les fréquences importantes d'allèles

nuls ont requis le développement de panels plus importants de marqueurs chez les mollusques (Hedgecock et al., 2004). C'est à partir de l'obtention des panels de microsatellites basés sur des approches multiplex que les niveaux d'assignations de parentés ont été suffisants (Guichoux et al., 2011), avec jusqu'à 100% des descendants assignés à un couple de parents (Liu et al., 2017). Plus récemment, ce sont des marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism) qui ont commencé à être utilisés (Hauser et al., 2011). Bien qu'ils soient seulement bi-alléliques, ils peuvent être informatifs à condition d'en avoir suffisamment, répartis sur l'ensemble du génome. Ces marqueurs ont pu être développés grâce à l'évolution des techniques de séquençage. L'huître creuse a été l'un des premiers mollusques dont le génome a été séquencé et assemblé, malgré sa complexité. Cette avancée a ouvert la voie au développement de puces à SNP en utilisant le génome de référence et en comparant les séquences d'une population de référence présentant une grande diversité génétique, la détection des marqueurs SNP était facilitée. Ces panels de SNP peuvent ensuite être utilisés pour génotyper diverses populations et ont l'avantage de permettre une utilisation en routine ainsi qu'une répétabilité des différentes analyses ultérieures. En l'absence de données génomiques suffisantes, la méthode de génotypage par séquençage (genotyping by sequencing, GBS) est souvent appliquée. Des méthodes comme le RAD-seq consistent à réduire la taille du génome grâce à des enzymes de restriction puis à séquencer les régions retenues. En comparant les séquences des différents individus, les SNP sont détectés. Avec cette méthode, les marqueurs sélectionnés peuvent être spécifiques de la seule population étudiée, mais la répétabilité du génotypage est limitée et la qualité du génotypage est plus faible qu'en utilisant une puce à SNP fiable. Le premier panel SNP de l'huître creuse a été développé en 2014 et comprenait 384 SNP (Lapègue et al., 2014). En 2017, deux puces à SNP ont été développées simultanément. Une puce Affymetrix Axiom moyenne densité bi-espèce avec 14 950 SNP dédiés à l'huître plate (*Ostrea edulis*) et 40 625 à l'huître creuse (Gutierrez et al., 2017) et une puce haute densité de la même technologie de 190 420 SNP pour l'huître creuse (Qi et al., 2017), mais qui n'est pas disponible publiquement. Seule la puce moyenne densité a donc pu être utilisée tout au long des analyses développées pendant cette thèse.

3.4.1.4. Familles mélangées

L'utilisation de marqueurs moléculaires et des méthodes d'assignation de parenté adaptées ont ainsi permis de reconstruire le pedigree d'individus élevés dans un environnement commun grâce à un simple prélèvement de tissu. Outre la possibilité d'augmenter le nombre de familles sans nécessiter de place supplémentaire, un intérêt majeur est la possibilité d'accroître la pression de sélection tout en maîtrisant la consanguinité (Vandeputte and Haffray, 2014), ce qui permet de maximiser les gains génétiques tout en minimisant le niveau de consanguinité grâce à des schémas de croisements appropriés. Ce processus augmente la sélection des meilleurs individus, favorisant ainsi l'amélioration des caractères génétiques souhaités. La sélection familiale a l'avantage de pouvoir estimer la valeur génétique d'un individu même pour des phénotypes létaux en se basant sur la performance d'individus apparentés. En revanche dans ce cas de figure de sélection sur collatéraux, tous les individus d'une même famille vont partager la même valeur génétique ne considérant donc pas la variabilité existante au sein d'une famille. Pour des caractères non létaux en revanche, il est possible de sélectionner les meilleurs individus de chaque famille en mesurant directement leur performance, c'est la sélection intra-famille. Il est donc aussi possible de prendre en compte l'information de la famille grâce à la performance des individus apparentés et l'information de performance individuelle pour estimer la valeur génétique d'un candidat sur des caractères non létaux avec la sélection combinée. Pour ce faire, la méthode statistique introduite en 1975 et faisant référence à ce jour est le BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) (Henderson, 1975). Le modèle de référence pour estimer les valeurs génétiques des individus est un modèle linéaire mixte, le modèle animal, qui se décompose comme suit :

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \mathbf{e}$$

Avec \mathbf{y} est le vecteur de performances, $\boldsymbol{\beta}$, le vecteur contenant les effets fixes, \mathbf{X} la matrice d'incidence reliant les effets fixes aux performances, \mathbf{u} le vecteur des valeurs génétiques additives des animaux avec une variance égale à $\mathbf{A}\sigma^2_a$, où \mathbf{A} est la matrice d'apparentement entre les individus et σ^2_a la variance génétique additive. \mathbf{Z} est la matrice d'incidence reliant les performances aux individus et \mathbf{e} le vecteur des résidus du modèle.

Les effets fixes connus et induits par l'environnement comme par exemple les bacs d'élevage ou l'âge à la performance sont pris en compte dans le modèle pour réduire au maximum la

variance résiduelle et mieux estimer les valeurs génétiques. La résolution du BLUP se fait à l'aide d'un système d'équations défini de modèle mixte qui permet l'estimation conjointe des effets fixes et des effets aléatoires (Henderson, 1975).

L'utilisation du BLUP dans des schémas de sélection se fait en définissant des objectifs de sélection. Ce sont l'ensemble des caractères dont la volonté est de les diminuer, de les maintenir ou de les augmenter. En pondérant l'ensemble des caractères en fonction de leur importance, il est possible d'avoir un index des candidats à la sélection. Les candidats avec les meilleures estimations de valeurs génétiques (VG), figurant dans le haut de l'index, peuvent donc être sélectionnés comme futurs géniteurs. L'objectif de cette sélection est d'augmenter la valeur génétique moyenne de la population en réalisant un progrès génétique annuel (ΔG) se définissant comme suit :

$$\Delta G = \frac{i r \sigma_a}{T}$$

Où i est l'intensité de sélection : la différence entre la valeur moyenne d'un caractère chez les animaux sélectionnés et celle des candidats à la sélection en unité d'écart-type. r est la précision de l'évaluation génétique, σ_a est l'écart-type génétique du caractère et T est l'intervalle de génération représentant le temps nécessaire pour que le gain génétique soit transmis à la génération suivante.

Pour tirer avantage de la sélection par BLUP, il est donc nécessaire d'attendre la mesure des performances non seulement des individus apparentés mais aussi des candidats à la sélection et ainsi obtenir des VG individuelles. De fait, le progrès génétique par sélection entre deux générations sera freiné soit par une intensité de sélection plus faible soit par une baisse de la précision de prédiction. De plus, attendre les performances des candidats peut parfois prendre beaucoup de temps. Il serait donc très intéressant de trouver un moyen d'augmenter la précision des VG dès le plus jeune âge chez certaines espèces, sans devoir attendre la naissance des descendants. Il serait également très intéressant de pouvoir estimer les valeurs génétiques pour des caractéristiques complexes ou coûteuses à mesurer, comme certaines caractéristiques liées à la santé ou à la qualité de la chair, sans avoir à infecter les animaux, à faire des dosages biochimiques ou à les abattre.

3.4.2. Sélection génomique

L'arrivée et le développement des marqueurs génétiques ont progressivement révolutionné les schémas de sélection des espèces d'élevage. L'utilisation de puces à SNP pour le génotypage offre une quantité considérable d'informations génétiques, ce qui permet une meilleure distinction entre les individus et une compréhension accrue des mécanismes génétiques responsables des performances différentes. En 2001, Meuwissen et al. (2001) ont proposé d'utiliser cette information génomique dans les programmes de sélection, marquant ainsi le début de la sélection génomique. Le principe est de pouvoir estimer la valeur génétique d'un individu à partir de son génotype uniquement en estimant l'effet de chaque marqueur sur le phénotype. Les milliers de marqueurs répartis sur l'ensemble du génome offrent donc l'opportunité d'améliorer la précision de la sélection et, par conséquent, le gain génétique par génération. C'est en 2008 par les races bovines laitières que la sélection génomique est arrivée avec le développement de la première puce à SNP pour une espèce d'élevage contenant 54 000 marqueurs. Elle est maintenant appliquée en routine dans de plus en plus d'espèces terrestres comme les bovins laitiers, les races bovines à viande, les porcs et les volailles (Rexroad et al., 2019). Pour les espèces aquacoles, la sélection génomique a débuté chez les poissons et en particulier sur les saumons (Tsai et al., 2015). Depuis, l'intérêt de la sélection génomique est étudié chez de plus en plus d'espèces comme par exemple le bar, la daurade, la truite, les crevettes ou encore les huîtres (D'Ambrosio et al., 2020 ; Griot et al., 2021 ; Zenger et al., 2019). En général, il est largement accepté que la sélection génomique améliore le taux de gain génétique en augmentant la précision de prédiction des valeurs génétiques et, dans certaines espèces, en raccourcissant les intervalles de génération.

Concrètement, la sélection génomique s'effectue en commençant par la constitution d'une population de référence dont les individus sont phénotypés et génotypés. En ayant une population de taille suffisamment importante et génétiquement proche des candidats à la sélection, le modèle statistique utilisé peut être calibré le plus justement possible pour estimer les effets des SNP. La valeur génétique individuelle est obtenue en additionnant les effets estimés de l'ensemble des SNP répartis sur le génome. Les modèles se basant sur la proposition de Meuwissen et al., 2001 suivent l'hypothèse du modèle génétique infinitésimal de Fisher (1918) en considérant que chacun des SNP explique une part de la variance additive

et que la distribution des effets de l'ensemble des marqueurs suit une loi normale de faible variance. Cependant, il n'est pas dit qu'un caractère soit polygénique. Il est donc possible que seuls quelques SNP expliquent une grande part de la variance additive. Les modèles Bayésiens sont alors plus performants car ils se basent sur d'autres lois que la loi normale en définissant *a priori* certaines variables permettant une meilleure approximation de la réalité génétique influençant ces caractères, comme montré par simulations par Goddard et Hayes (2007). Pour calculer les valeurs génétiques à partir de l'information génomique (GEBV, genomic estimated breeding value) il est possible d'utiliser un modèle similaire au BLUP, appelé BLUP génomique (GBLUP). Proposé par Habier et al. (2007), il consiste à remplacer la matrice de parenté basée sur le pedigree (A) par la matrice de parenté basée sur l'information génomique (G). Cette matrice a été proposée par VanRaden (2008) et se définit par :

$$\mathbf{G} = \frac{\mathbf{Z}\mathbf{Z}'}{2\sum p_i(1-p_i)}$$

Où Z est la matrice comprenant les génotypes de tous les individus en ligne et les SNP en colonne et p_i est la fréquence d'un allèle au SNP i .

Ce modèle limitant l'estimation des valeurs génétiques aux seuls individus génotypés, il a été développé et amélioré afin de prendre en compte, en une seule étape, l'ensemble des informations disponibles (*i.e* les phénotypes des individus génotypés et non génotypés), c'est le ssGBLUP (single step GBLUP). Pour cela, Legarra et al. (2009) proposent de remplacer la matrice G par une matrice H construite à partir des matrices A et G . Son inverse est défini comme suit :

$$\mathbf{H}^{-1} = \mathbf{A}^{-1} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & \mathbf{G}^{-1} - \mathbf{A}_{22}^{-1} \end{bmatrix}$$

Avec G^{-1} l'inverse de la matrice d'apparentement génomique (G) et A_{22}^{-1} l'inverse de la matrice d'apparentement A des individus non génotypés seulement.

Après avoir calibré l'équation de prédiction avec le modèle choisi et la population de référence, la dernière étape d'une évaluation génomique est de prédire les valeurs génétiques des candidats à la sélection. Ces candidats sont génotypés et grâce aux effets estimés des marqueurs ou grâce à leur apparentement réalisé avec la population de

référence, leurs GEBV sont estimées. Ainsi un classement peut être établi parmi les candidats pour devenir de futurs géniteurs.

L'aspect le plus important de la sélection génomique pour des schémas de sélection basés sur des frères/sœurs, comme c'est souvent le cas pour les huîtres, est la possibilité d'estimer plus précisément les valeurs génétiques, en capturant la composante intrafamiliale de la variation génétique et donc en assignant une EBV unique à chaque individu d'une fratrie. De plus, elle est particulièrement utile pour les caractères qui sont coûteux ou difficiles à mesurer sur les candidats à la sélection eux-mêmes. Par conséquent, des caractères comme la résistance aux maladies (sur le terrain ou en challenge expérimental) et les traits invasifs tels que le rendement ou la qualité de la chair peuvent être inclus. La plus grande précision entraînera *in fine* une amélioration équivalente du gain génétique dans les programmes d'élevages. Pour les espèces terrestres, la sélection génomique peut offrir en plus l'avantage de diminuer l'intervalle de génération en évitant d'attendre les performances des collatéraux ou de la descendance comme les taureaux pour le lait ou les coqs pour les œufs.

La sélection génomique a cependant quelques inconvénients car elle est dépendante de la taille de la population de référence ce qui signifie qu'elle aura peu d'intérêt sur des populations de petite taille. De plus, la relation entre les phénotypes et les génotypes dans des populations d'huîtres où le taux de recombinaison est parfois décrit comme élevé peut rapidement être brouillée ce qui requiert d'enrichir la population de référence en phénotypant de nouveaux individus régulièrement (à chaque génération). Enfin, une grande partie de la production française des écloséries est constituée d'huîtres triploïdes nécessitant une étape de tetraploïdisation (voir chapitre 1 section 3.3). Les méthodes de sélection génomique actuelles sont largement basées sur les diploïdes et ne sont donc pas encore adaptées à une amélioration optimale des performances des triploïdes ou des tétraploïdes.

3.4.3. Architecture génomique

Le développement des marqueurs génomiques a été précieux pour le développement de programmes de sélection visant à améliorer l'efficacité et la résilience de la production. En parallèle, ils ont beaucoup été utilisés pour définir l'architecture génétique des caractères d'intérêt pour les productions animales. Pour cela, il a aussi fallu développer un certain

nombre de connaissances sur la génomique des espèces. En effet, l'acquisition des premières cartes génétiques physiques avec en premier des marqueurs AFLP (Li and Guo, 2004) puis microsatellites (Hubert and Hedgecock, 2004) et enfin SNP (Hedgecock et al., 2015) a contribué à enrichir les connaissances des génomes. Des informations comme la position des marqueurs sur le génome, la fréquence de leurs allèles dans une population ainsi que le niveau d'association entre chaque paire de marqueurs sont désormais accessibles. Grâce à cela, différents modèles statistiques peuvent établir un lien entre les marqueurs et le phénotype et donc identifier des régions du génome ayant un effet sur la variabilité de la performance. Ces régions sont appelées QTL pour Quantitative Trait Locus. La détection de QTL repose donc sur une association statistique entre les fréquences alléliques des marqueurs observés dans une population et un phénotype. Avec un nombre de marqueurs suffisamment important, il est donc possible d'obtenir plusieurs QTL avec leur position et leur effet sur un phénotype. Pour cela, plusieurs méthodes se sont développées au cours du temps. Avec comme exemple l'analyse de liaison intra famille (LA) utilisée avec des familles de frères/sœurs ou de demi-germains. Ici, la détection d'un QTL consiste à évaluer les différences de performances manifestées par les descendants en fonction de l'allèle transmis par leurs parents. Une variante de la méthode LA consiste à faire de la cartographie d'intervalle dont le principe est de tester à intervalle régulier la présence ou non d'un QTL sur un segment du génome, donc entre deux marqueurs. Cela a pu être réalisé chez les huîtres pour des caractères de croissance (Guo et al., 2012) ou de résistance aux maladies (Lallias et al., 2009). Ces méthodes ont l'avantage d'être puissantes, robustes mais ne permettent pas de localiser les QTL de manière précise. L'augmentation du nombre de marqueurs avec les SNP permettant de couvrir l'ensemble du génome a permis d'utiliser la propriété de déséquilibre de liaison (DL) pour réaliser les analyses d'association. Cela repose sur la mesure d'une association préférentielle entre les allèles de deux locus dans une population diversifiée. Pour expliquer cela, pendant la méiose, des événements de recombinaison peuvent se produire, ce qui entraîne des échanges de segments chromosomiques. Ces recombinaisons ont tendance à se produire plus fréquemment entre deux locus distants et moins fréquemment entre deux locus proches. Ainsi, plus les locus sont proches, plus les allèles seront transmis ensembles, ce qui crée un déséquilibre de liaison. En revanche, lorsque deux locus éloignés sont transmis de manière indépendante, on parle d'équilibre de liaison. Cette méthode d'association appelée GWAS (Genome Wide Association Study) teste si la fréquence allélique

explique les différences phénotypiques observées dans la population. Elle a l'avantage d'être puissante, de localiser précisément les QTLs mais manque de robustesse avec la détection de fausses associations entre un marqueur et le phénotype. Les causes pouvant être le grand nombre de tests réalisés pour l'ensemble des marqueurs ainsi que la structure de la population. Pour cela, des approches LD-LA qui combinent l'analyse d'association et l'analyse de liaison ont été développées pour prendre en compte la structure de la population. C'est une méthode puissante robuste et précise de détection de QTL car elle bénéficie du suivi de la ségrégation des allèles des marqueurs dans des familles parfois complexes ainsi que la corrélation entre une grande quantité de marqueurs et le phénotype. Il existe une grande diversité de modèles pour effectuer ces analyses de GWAS par LD-LA qui font des hypothèses différentes sur la distribution des effets des marqueurs. Parmi ceux-ci, le modèle GBLUP qui teste tous les marqueurs simultanément et les modèles bayésiens qui permettent de tester différentes architectures génétiques, sont les plus couramment utilisés.

Les marqueurs génomiques ont ainsi permis de mieux comprendre l'architecture génétique des caractères, en particulier celle des résistances aux maladies. Un exemple bien connu est le QTL majeur affectant la résistance au virus de la nécrose pancréatique infectieuse (NPI) chez le saumon Atlantique, pour lequel l'adoption rapide de la MAS (Marker Assisted Selection) par l'industrie a joué un rôle majeur dans la prévention des épidémies de NPI (Moen et al., 2015). La MAS consiste à génotyper les candidats à la sélection seulement sur les quelques marqueurs fortement associés au phénotype et de sélectionner les meilleurs candidats. Chez les huîtres, ces analyses sont bien moins nombreuses que chez les poissons. Cependant quelques QTLs ont pu être détectés en association avec des caractères nutritionnels (glycogène, la teneur en acides aminés et en acides gras)(Meng et al., 2019 ; Shi et al., 2020), l'accumulation de métaux (Meng et al., 2020) et la couleur de la nacre chez l'huître perlière (Ziman Wang et al., 2022). Pour ce qui est des maladies des huîtres, il semblerait qu'il s'agisse de caractères polygéniques avec plusieurs régions génomiques ayant de faibles effets sur la résistance comme pour la résistance à *V. alginolyticus* (Yang et al., 2022). Pour le virus OsHV-1, des résultats contrastés ont été observés d'abord avec un QTL sur le chromosome 6 expliquant une faible proportion de la variance génétique (Gutierrez et al., 2017 ; Sauvage et al., 2010) puis avec une part de la variance phénotypique expliquée importante (13%) trouvé par un QTL sur le chromosome 8 (Divilov et al., 2023).

3.5. Objectifs de sélections

Depuis la fin du XXème siècle, plusieurs étapes ont permis de maîtriser complètement le cycle de vie des huîtres ouvrant la voie au développement d'écloseries et permettant la production de naissain en dehors des conditions environnementales optimales. Ainsi, des objectifs de sélection ont pu être définis dans différents pays au travers de financements publics initialement puis au sein de programmes de sélection privés. L'importance économique de la production ostréicole, le contrôle des cycles biologiques, la grande fécondité et la variabilité génétique ont favorisé la mise en œuvre des programmes de sélection. Les premiers programmes de sélection se sont concentrés sur des caractères d'importance économique tels que la croissance ou la résistance aux maladies. Plusieurs programmes de sélection des mollusques existent dans le monde dont les principaux sont aux États-Unis, en Australie, en Nouvelle-Zélande et en Chine.

Le « *Molluscan Broodstock Program* » (MBP) sur la côte ouest des États-Unis, produit et sélectionne des huîtres du Pacifique depuis 1996. La population de géniteurs est basée sur six cohortes fondatrices de 50 familles chacune, produites à partir de 600 huîtres sauvages collectées dans différentes zones de la côte ouest. Cette large population fondatrice a servi à la mise en œuvre de schémas de sélection basés sur le suivi du pedigree par élevage de familles séparées pour améliorer le rendement (de Melo et al., 2016 ; Langdon et al., 2003). Le MBP se trouve dans une période de transition pour faire partie du nouveau Pacific Shellfish Breeding Center (PSBC)². Ce programme vise à améliorer des caractères ciblés par les producteurs, tels que la croissance, la tolérance aux maladies et au stress, la répartition de l'effort de reproduction, la survie des triploïdes, la forme de la coquille ainsi que la couleur de la coquille et de la chair. Pour cela, les nouveaux outils et les ressources génétiques disponibles seront utilisés pour réviser et faire progresser les schémas de sélection, par exemple avec la sélection assistée par marqueur ou la sélection génomique.

Dans le sud de l'Australie et en Tasmanie, un programme d'élevage d'huîtres creuses a débuté en 1997 et s'est structuré en 2000 avec l'ASI (*Australian seafood industries*)³ pour assurer la poursuite du programme de sélection et faciliter le transfert technologique vers l'industrie.

² <https://marineresearch.oregonstate.edu/comes/molluscan-broodstock-programusda-ars-pacific-shellfish-breeding-center>

³ <https://www.asioysters.com.au/>

Les caractères de croissance et de rendement en chair étaient principalement visés dans des programmes de sélection massale et sur pedigree. Le programme de sélection est maintenant entièrement basé sur le pedigree suivi en familles séparées. Avec l'introduction du syndrome de mortalité des huîtres du Pacifique (POMS) en Australie, le programme de sélection s'est concentré sur cinq caractéristiques jugées économiquement importantes pour la production d'huîtres commerciales : le taux de croissance, l'indice de largeur de la coquille, le temps nécessaire pour atteindre la taille commerciale, la survie générale et la résistance au POMS. La résistance à la maladie POMS a été la principale caractéristique sélectionnée au cours des cinq dernières années (Cunningham et al., 2016), l'objectif étant de maintenir les autres caractéristiques à un niveau stable.

En Nouvelle-Zélande, le *Cawthron Institute* a lancé un programme de sélection d'huîtres du Pacifique en 1999. Les objectifs initiaux étaient d'élever des huîtres présentant une bonne survie générale, une croissance rapide, une forme de coquille optimale et un rapport élevé entre la chair et la coquille. Pour atteindre ces objectifs, une combinaison de sélections intra et inter-familiales a été utilisée, avec des familles élevées séparément (Camara and Symonds, 2014). À partir de 2010, les objectifs de sélection ont radicalement changé en raison d'une forte mortalité causée par le virus OshV-1 (Camara et al., 2017). La résistance au virus est devenue le trait le plus important à sélectionner. Le programme a débuté avec deux cohortes (2013 et 2015) comprenant environ 35 familles chacune, issues des animaux survivants sur le terrain. À partir de 2013, un modèle BLUP a été utilisé pour sélectionner à la fois la résistance au virus et la croissance, le rendement et la qualité (Camara and Symonds, 2014 ; Symonds et al., 2018). En Nouvelle-Zélande, la moule verte (*Perna canalicula*) est un autre mollusque ayant une grande importance économique. Un programme de sélection a été lancé avec 144 familles issues de moules vertes sauvages produites en 2002 et 2003. La sélection était principalement basée sur la longueur de la coquille et le poids de la chair des meilleures familles (Camara and Symonds, 2014 ; Symonds et al., 2018). Des plans de croisement déconnectés ont été utilisés, en utilisant les meilleurs individus et en évitant les accouplements entre individus génétiquement proches, en se basant sur les informations de pedigree d'une seule génération. Les familles étaient élevées séparément jusqu'à ce qu'il soit possible de les marquer par gravure sur la coquille. À partir de 2013, d'autres caractères de croissance et de qualité dont la couleur ont été ajoutés, lorsque des acteurs privés se sont

impliqués dans la production des moules. Aujourd'hui, la sélection dans laquelle plusieurs caractères sont combinés en un indice de sélection se fait à l'aide d'un modèle BLUP et la gestion de la diversité génétique se fait par une approche de contributions optimales (Symonds et al., 2018).

En Chine, les programmes de sélection sont peu décrits bien que le naissain provienne principalement d'écloseries (Li et al., 2011). Cependant, des programmes de sélection expérimentaux existent. En 2006, un programme de sélection massale a démarré pour améliorer la croissance. Plus de 500 parents issus de trois lots d'élevage ont été utilisés pour produire des lignées sélectionnées et témoin (Li et al., 2011). La sélection massale s'est poursuivie sur plusieurs générations jusqu'en 2012, toujours pour les caractères de croissance (Zhang et al., 2018). Plus récemment la survie sur le terrain a été intégrée aux caractères de croissance en appliquant une sélection basée sur le pedigree avec un élevage en familles séparées (Chi et al., 2021). D'autres caractères ont également été ciblés grâce à différents programmes de sélection. Par exemple, un programme de sélection basé sur la couleur noire de la coquille a été initié en 2010 par une sélection basée sur le pedigree. Dans un premier temps, les élevages étaient réalisés en familles séparées, puis à partir de 2014, les familles étaient mélangées à l'état larvaire (Xu et al., 2017). Par ailleurs, la couleur de la coquille a également été sélectionnée à l'aide de schémas de sélection massale et familiale afin d'obtenir des huîtres à la coquille orange (Chen et al., 2022). De plus, des sélections familiales ont été effectuées pour obtenir des huîtres à la coquille blanche ou noire, et des croisements ont été réalisés entre les différentes lignées afin d'observer les différences de survie et de croissance (Han et Li, 2021).

Dans l'ensemble de ces programmes de sélection, ce sont principalement des caractères de croissance, de qualité et de survie qui ont été ciblés. En passant en revue les différents phénotypes présents dans ces trois types de caractères, il est possible d'explorer différentes possibilités d'amélioration génétique pour l'huître creuse.

3.5.1. Croissance

La croissance a été l'un des premiers caractères à être sélectionné chez les huîtres afin d'obtenir le plus rapidement un individu à taille commerciale. La mesure de la croissance peut

se faire *via* différents paramètres. La longueur, la largeur, l'épaisseur et le poids total sont souvent utilisés car faciles et rapides à obtenir. Le rendement en chair est aussi un paramètre important faisant régulièrement partie des objectifs de sélection, mais sa mesure est létale et nécessite donc des schémas de sélection adaptés comme la sélection sur collatéraux et sélection génomique. Les estimations d'héritabilité pour ces caractères de croissance vont de 0,07 à 0,58 pour le poids total et de 0,1 à 0,49 pour les caractères de taille de la coquille (de Melo et al., 2016 ; Dégremonet et al., 2007 ; Evans and Langdon, 2006a ; Gomes et al., 2018 ; Alejandro P. Gutierrez et al., 2018 ; Kong et al., 2015 ; Langdon et al., 2003 ; H. Li et al., 2017 ; Xu et al., 2017). Des variantes utilisant des rapports entre ces paramètres peuvent aussi être parfois reportées, mais entrent peu souvent dans les objectifs de sélection. Hollenbeck and Johnston (2018) ont compilé un ensemble de publications sur les programmes de sélection et ont rapporté une moyenne d'environ 12% de gain génétique par génération sur des caractères de croissance.

3.5.2. Qualité

Etant donné l'importance économique de l'ostréiculture et le marché de plus en plus concurrentiel, d'autres caractères sont étudiés. C'est le cas par exemple de la couleur, car il existe une grande variabilité phénotypique de la couleur de la coquille ou du bord du manteau et que des débouchés commerciaux peuvent exister pour ces caractères (Evans et al., 2009). Cela peut aller d'une couleur uniforme de la coquille avec des lignées de couleur complètement noire, blanche ou jaune (Ge et al., 2015) à des variations de couleur sur l'extérieur des coquilles ou de la nacre ou encore la volonté de contraste entre le bord du manteau et le reste de la chair (Kang et al., 2013). Les phénotypes de couleur sont nombreux et les méthodes pour faire les mesures tout autant, avec pour les plus simples, un système de notation ou mesuré à partir de photos étalonnées. Au vu des nombreux paramètres qui entrent en compte dans la mesure des nombreux phénotypes de couleur et des différences entre les populations étudiées, il n'est pas étonnant que les héritabilités estimées de ce genre de caractère soient très hétérogènes ($h^2 = 0,15-0,69$)(De et al., 2019 ; Evans et al., 2009 ; JianLong et al., 2016 ; Xing et al., 2018 ; Xu et al., 2017)

Aussi, les huîtres peuvent être une source importante de protéines pour l'homme, et le glycogène et les lipides constituent leurs principaux composants de stockage (Berthelin et al., 2001). Elles contiennent des lipides (8-9 %), protéines (39-53 %), glycogène (22-39 %) (Linehan et al., 1999). De plus, les huîtres contiennent du zinc (Zn), du fer (Fe), du sélénium (Se) et d'autres oligo-éléments qui peuvent être essentiels pour l'huître ou pour l'homme. Ces caractères commencent donc à être étudiés et les héritabilités estimées sont souvent élevées (> 0,3) sauf pour le zinc et le sélénium où les résultats sont contrastés selon les études (Liu et al., 2019 ; Wan et al., 2020).

Dans l'ensemble, tous ces phénotypes de qualité et de croissance montrent des bases génétiques suffisantes, permettant la mise en place de programmes de sélection. Les schémas de sélection en France pour les caractères de croissance restent basés sur de la sélection massale intra-groupe. Bien que la faisabilité de la sélection génomique ait été démontrée grâce à des populations expérimentales, elle devait encore être testée sur des populations commerciales. De plus, des caractères d'intérêt comme la couleur nécessitent encore le développement de méthodes de phénotypage cohérentes avec le nombre important d'individus requis. Dans le cadre de cette thèse, une évaluation est réalisée pour déterminer la pertinence de l'intégration de la sélection génomique pour des caractères de croissance et de qualité dans les schémas de sélection des élevages ostréicoles français.

3.5.3. Résistance aux maladies

La résistance aux maladies est un terme qui, d'un point de vue biologique, peut décrire un spectre allant d'une tolérance accrue à une résistance complète. La résistance est alors définie comme la capacité à limiter la charge en agents pathogènes, tandis que la tolérance est définie comme la capacité à limiter l'impact sur la santé d'une charge en agents pathogènes donnée (Kause and Ødegård, 2012 ; Schneider et Ayres, 2008). Dans ce cas, les hôtes résistants peuvent réduire la transmission de l'agent pathogène et donc la prévalence de la maladie dans la population, alors que les hôtes tolérants n'ont pas d'effet négatif sur la transmission de l'agent pathogène et ont donc un effet neutre, voire positif, sur la prévalence de la maladie (Horns and Hood, 2012). Ces deux résultats sont de toute façon bénéfiques pour la production et peuvent être améliorés au moyen d'une sélection (Kause et al., 2012). Pour

les mollusques, la résistance aux maladies est généralement mesurée comme la survie des animaux en réponse à un challenge, soit expérimental par immersion ou injection d'un agent pathogène, soit "sur le terrain" où les survivants d'une épidémie sont sélectionnés et considérés comme résistants. Le critère de résistance aux maladies est devenu très important notamment après l'apparition du variant d'OshV-1 en 2008 et des mortalités de masse associées.

Selon l'étude sur les programmes d'élevage de mollusques menée par Hollenbeck and Johnston (2018), différentes approches de sélection familiale et de sélection massale sont utilisées à travers le monde, et des réponses remarquablement élevées à la sélection (environ 16% d'augmentation par génération de la valeur génétique additive par rapport à la moyenne de la population de base) ont été observées pour la résistance aux maladies chez les huîtres. La plupart des études de la résistance des mollusques aux maladies se sont orientées vers des agents pathogènes causant des fortes pertes économiques (Potts et al., 2021). Les premières études de sélection reportées dans les années 1970 concernent la résistance à *Haplosporidium nelsoni*, aussi désigné « MSX » chez *C. virginica* par sélection massale sur trois générations permettant de diminuer la mortalité d'une génération à l'autre (Haskin and Ford, 1979). Depuis, l'huître plate, *O. edulis*, a également fait l'objet d'un programme de sélection en 1985 pour la résistance au parasite protozoaire *Bonamia ostreae* qui induit une maladie chronique, et les lignées sélectionnées ont montré des taux de survie quatre fois plus élevés ainsi qu'une prévalence parasitaire plus faible par rapport aux lignées non sélectionnées (Naciri-Graven et al., 1998). Chez l'huître *Saccostrea glomerata*, une sélection a été effectuée pour augmenter sa survie face à la maladie QX provoquée par *Marteilia sydneyi* conduisant à une réduction de 22% de la mortalité chez les lignées sélectionnées après deux générations (Nell and Hand, 2003). Dans le même temps, une sélection incluant la résistance à un second pathogène, *Bonamia roughleyi*, a été opérée, améliorant la survie de 29% après quatre générations et démontrant en plus la faisabilité d'une sélection pour une double résistance (Dove et al., 2013). Plus récemment une étude sur la résistance à la charge parasitaire de *Perkinsus olseni* chez la palourde *Ruditapes philippinarum*, a montré une héritabilité estimée à 0,51, un résultat encourageant pour appliquer un programme de sélection sur cette espèce. Chez *C. gigas*, *V. coralliilyticus* est connu pour être responsable de mortalité de larves dans les éclosiers de coquillages en France, en Nouvelle-Zélande et aux États-Unis (Dubert et al.,

2017). Les larves d'huîtres du Pacifique sont très sensibles à cet agent pathogène avec une mortalité pouvant atteindre 100 % en condition contrôlée (Richards et al., 2015). Une héritabilité de 0,11 sur l'échelle observée a été estimée sur des larves issues du programme de sélection MBP, suggérant une amélioration possible de la résistance des larves d'huîtres dû à *V. coralliilyticus*. Les programmes de sélection pour améliorer la résistance à OsHV-1 chez *C. gigas*, ont montré une amélioration constante sur quatre générations dans plusieurs lignées, avec des gains de survie finaux allant de 43,9% à 80,6% par rapport aux stocks témoins (Dégremont et al., 2015c). Les succès obtenus dans le développement de la résistance à OsHV-1 sont maintenant appliqués à la résistance aux bactéries *Vibrio*, qui sont impliquées dans la mortalité estivale (Azéma et al., 2016 ; Dégremont et al., 2021, 2020 ; Yang et al., 2022). Ces travaux ont démontré que la résistance aux *Vibrio* peut être améliorée par l'amélioration génétique, bien que l'héritabilité soit plus faible (0,09-0,33) (Azéma et al., 2017a) que celle rapportée pour la résistance à OsHV-1 (0,12-0,63) (Azéma et al., 2017 ; Camara et al., 2017 ; Dégremont et al., 2015b ; Divilov et al., 2021 ; Gutierrez et al., 2018 ; Gutierrez et al., 2020).

Depuis 2013, en France, les différents centres techniques régionaux ont mutualisé leurs suivis des performances des élevages ostréicoles à partir de mêmes lots de naissains. Le projet « SIPEN » (Suivi interrégional des performances d'élevage de naissain) a pour but de comparer les performances d'élevage de naissain de *C. gigas*, de différentes origines, au cours d'un cycle complet d'élevage. Des naissains de quatre origines sont utilisés : (1) des triploïdes et (2) des diploïdes de trois écloséries, des naissains issus de captage naturel (3) de Charente-Maritime et (4) du Bassin d'Arcachon. Les graphiques de la Figure 15 A et B ont été extraits de différents rapports des centres techniques ostréicoles des différentes régions en France (Barbier et al., 2021 ; Glize et Morvant, 2023). Ils montrent les mortalités des différentes origines du naissain dans deux bassins de production (Charente-Maritime et Pays de la Loire, respectivement). En général, les huîtres d'écloserie sont plus résistantes que les huîtres issues de captage la première année. Ces rapports des centres techniques CAPENA et SMIDAP (Barbier et al., 2021 ; Glize et Morvant, 2023) montrent aussi les mortalités pour des huîtres de deuxième et troisième années où celle du naissain d'écloserie peuvent être équivalentes voir légèrement supérieures à la mortalité du naissain de captage. Le résultat des deux populations de captage sont différents en fonction des zones de productions. D'autres

rapports de centres techniques (Cépralmar, SMEL) sont aussi disponibles relatant les mêmes données d'huîtres mais déployées dans l'étang de Thau, dans le bassin d'Arcachon ou encore en Normandie. Ces données permettent un suivi temporel dans chaque zone de production. Il en ressort que les données de performances des naissains de différentes origines sont variables en fonction des années et des sites d'élevage même au sein d'une même zone de production. Il est important de rappeler ici que les données de mortalités dans chaque région ne reflètent pas un niveau de résistance ou de sensibilité face à des agents pathogènes déterminés mais plutôt à un ensemble de facteurs biotiques et abiotiques rencontrés une certaine année comme évoqué avec la triade épidémiologique. Cependant, à la vue des derniers résultats, les bonnes performances des huîtres issues d'écloseries encouragent la poursuite du développement des programmes de sélection.

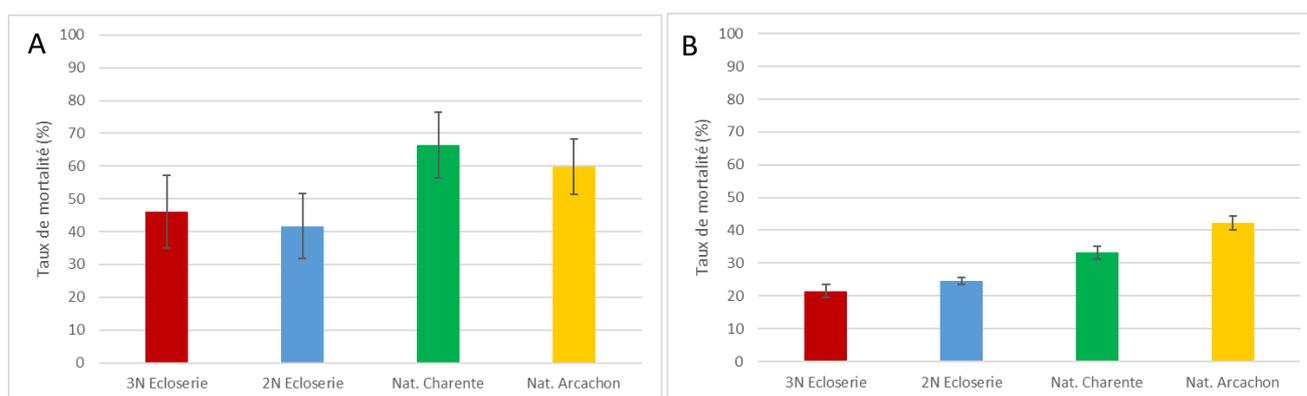


Figure 15 : Mortalité cumulée (%) moyenne des différents lots d'huîtres au cours de la première année d'élevage en Charente maritime en 2021 (A) et en Pays de la Loire en 2022 (B). Figure adaptée à partir des données du bilan 2021 de Charente Maritime (Barbier et al., 2021) et du bilan 2022 de Loire Atlantique (Glize et Morvant, 2023) du projet SIPEN

Les programmes de sélection pour *C. gigas* sur la côte ouest des États-Unis visent à améliorer la résistance à OsHV-1 par sélection familiale (Divilov et al., 2019). Les résultats de deux cycles de sélection familiale issue du *Molluscan Broodstock Program*, MBP, pour la survie à l'OsHV-1 ont donné une augmentation des valeurs génétiques estimées de 21,2% (Divilov et al., 2021).

Le programme de sélection actuellement en cours en Australie se focalise en partie sur la résistance au syndrome de mortalité des huîtres du Pacifique (POMS) causé par l'OsHV-1 avec une sélection intra et inter-familiale pour maximiser les gains génétiques tout en minimisant l'impact de la consanguinité. La Nouvelle-Zélande, par le biais du *Cawthron Institute*, mène aussi son programme de sélection pour les huîtres du Pacifique. Des épidémies d'OsHV-1 en

2010 ont conduit à la production de 36 familles de plein-frères en 2013, issues de survivants exposés à OsHV-1 sur le terrain. Ces familles constituent la base du programme d'élevage en cours visant à développer la résistance aux maladies chez l'huître tout en gardant du gain génétique sur des caractères de qualité. Les héritabilités estimées dans cette population pour la résistance à OsHV-1 en condition contrôlée et sur le terrain étaient de 0,42 et 0,30 respectivement (Symonds et al., 2018).

Bien que les bases génétiques de la résistance aux maladies aient été démontrées (Dégremont et al., 2015b ; Hollenbeck and Johnston, 2018 ; Yáñez et al., 2022), les études montrant le potentiel de la sélection génomique pour ces phénotypes chez *C. gigas* sont peu nombreuses et se focalisent essentiellement sur le virus OsHV-1. Il est donc nécessaire de développer cette approche à d'autres maladies ainsi que de prendre en compte des potentiels interactions entre différents agents pathogènes. Une meilleure connaissance de l'architecture génétique de la résistance à ces maladies est aussi nécessaire.

Les limites de la sélection massale ont été abordées, mettant en évidence les risques de perte de diversité génétique et de consanguinité, en particulier chez les espèces à forte fécondité telles que les huîtres. De plus, l'évaluation des candidats sur des caractères létaux n'est pas possible. La sélection familiale est considérée comme une meilleure approche pour la sélection, permettant d'évaluer la résistance aux maladies en réalisant des challenges sur les frères et sœurs des candidats sélectionnés, sans les exposer directement aux agents pathogènes et permettant l'évaluation conjointe d'autres caractères. Mais cette approche comporte aussi des limites car (1) le suivi individuel, en particulier lors des premiers stades de vie, peut être difficile en raison de leur petite taille et (2) les modèles utilisés ne permettent pas tout le temps d'obtenir de bonne précision des EBV pour distinguer des frères/sœurs. Aussi, des méthodes de génotypage peuvent être utilisées pour reconstruire le pedigree et obtenir l'information individuelle de l'ADN sur l'ensemble du génome grâce à des marqueurs SNP. Enfin, l'ensemble des caractères d'intérêt pour la sélection ostréicole comporte des bases génétiques permettant la mise en place de programme de sélection.

En conséquence, le contexte au début de cette thèse était propice à l'évaluation de la faisabilité de la mise en place de la sélection génomique dans des schémas de sélection de l'huître creuse *Crassostrea gigas* pour les principaux caractères d'intérêt tels que la croissance, la qualité et la résistance aux maladies.

4. Objectifs et organisation de la thèse

Cette thèse s'inscrit dans le cadre de deux projets européens « Quality-Huître » financé par le FEAMP (Fonds Européen pour les Affaires Maritimes et la Pêche) (N° PFEA470018FA1000011) et NewTechAqua projet H2020 (N° 862658) afin de tester et d'optimiser la mise en œuvre de méthodes de sélection génomique chez l'huître creuse *C. gigas*, en particulier pour des caractéristiques de commercialisation comme la croissance, la couleur et la résistance aux deux agents pathogènes majeurs touchant la profession ostréicole française. Elle a pu être réalisée grâce au financement d'une bourse CIFRE de l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie (ANRT) (N° 2019/1511) ainsi qu'aux partenariats entre Ifremer, le SYSAAF et les sélectionneurs Vendée Naissain et la SATMAR.

La première partie de résultats acquis au cours de cette thèse (Chapitre 2) concerne l'analyse des données obtenues avec la puce à SNP avec 40 625 marqueurs pour l'huître creuse. L'objectif de cette partie a été d'évaluer le potentiel de la sélection génomique pour les caractères de croissance, de rendement en chair et de couleur de la coquille dans deux programmes de sélection indépendants en famille mélangées à échelle commerciale dans les lignées sélectionnées de *C. gigas*. Il a fallu vérifier la qualité des marqueurs de la puce, caractériser la structure et la diversité génétique, le déséquilibre de liaison, estimer les paramètres génétiques pour les caractères et enfin, comparer les précisions de la sélection génomique et de la sélection basée sur le pedigree afin de fournir des recommandations pour optimiser la sélection dans les deux programmes d'élevage en sélection. Cette étude a été prolongée par une estimation des gains génétiques ainsi que d'une analyse d'association pangénomique (GWAS) sur l'ensemble des caractères étudiés. Une attention a aussi été portée à la gestion de la diversité génétique dans ces deux populations commerciales.

Le chapitre 3, vise à explorer l'architecture génomique et la précision de la sélection génomique de la résistance aux maladies chez l'huître du Pacifique, en comparant les challenges à un seul agent pathogène et en coinfection pour OsHV-1 et *V. aestuarianus*, à l'aide d'une population expérimentale produite avec des géniteurs de différents fonds génétiques. Il a fallu comme dans les populations commerciales, évaluer la qualité de la puce à SNP, réaliser l'assignation de parenté avec les génotypes des animaux de la population,

comparer les taux de survie des huîtres lors des trois challenges infectieux, estimer les paramètres génétiques de la résistance à ces infections contrôlées, évaluer l'utilité des informations génomiques pour améliorer la précision des EBV et identifier des QTLs impliqués dans la résistance à ces maladies/agents pathogènes chez *C. gigas*. Les analyses ont été poursuivies par une estimation des gains phénotypiques envisagés sur plusieurs générations pour les trois différentes conditions. Cette partie a été conclue en explorant différents scénarios de sélection pour mieux appréhender les objectifs de sélection à définir pour améliorer la résistance aux maladies dans un contexte de coinfection.

Enfin, le chapitre 4 de la thèse présente une synthèse et une discussion des résultats majeurs obtenus, dans le but de proposer des recommandations en matière d'optimisation et de potentiel de développement pour la mise en œuvre de schémas de sélection. L'objectif de cette réflexion est d'intégrer la sélection génomique, afin d'améliorer l'efficacité technique et la viabilité économique des schémas de sélection ostréicole.

Chapitre 2

Etude du potentiel de la sélection génomique pour l'amélioration de caractères de croissance et de qualité en populations commerciales chez *C. gigas*

1. Avant-propos

Comme pour d'autres espèces aquacoles, des programmes de sélection ont été mis en place chez l'huître creuse pour améliorer différents caractères tels que le taux de croissance, les caractères liés au poids, à la taille ou le rendement en chair. Les schémas de sélection actuels sont encore majoritairement basés sur de la sélection massale intra-groupe ou familiale (Boudry et al., 2021 ; Hollenbeck and Johnston, 2018 ; Nascimento-Schulze et al., 2021 ; Potts et al., 2021). Ces schémas de sélection ont fait leurs preuves et permettent un gain génétique substantiel mais ont toutefois des limites. Les écloséries françaises de coquillages qui font parties des acteurs importants au niveau européen dans les programmes de sélection de *C. gigas*, bénéficient de programmes de sélection parmi les plus avancés. Afin de maintenir leur avantage concurrentiel, la sélection génomique est une évolution incontournable, notamment pour améliorer les caractères de qualité et de croissance, qui font partie des priorités majeures.

L'utilisation des marqueurs génétiques comme les microsatellites offre la possibilité de mettre en place des programmes de sélection basés sur le pedigree (Kong et al., 2015), en mélangeant précocement les familles, ce qui permet de réduire les risques de confusion entre les effets environnementaux et les effets génétiques. Plus récemment, la faisabilité de la

sélection génomique avec des marqueurs SNP a pu être démontrée pour des caractères de croissance pour différentes espèces d'huîtres (Gutierrez et al., 2018 ; Peñaloza et al., 2022 ; Vu et al., 2021a, 2021b). Cependant, le nombre d'animaux reproducteurs et de familles utilisées ainsi que l'âge d'acquisition des performances dans ces études ne correspondent pas aux pratiques courantes appliquées à grande échelle dans l'industrie ostréicole ou sont seulement des simulations comme Delomas et al. (2023). En effet ces études utilisent ou se basent sur des nombres de familles inférieurs aux pratiques actuelles dans les écloséries françaises (< 50 Vs > 300). Cela peut entraîner des niveaux de déséquilibre de liaison plus élevés dans ces études, ainsi qu'une augmentation des niveaux d'apparentement avec plus de descendants par famille, favorisant une bonne réponse à la sélection génomique, ce qui ne reflète pas nécessairement les résultats attendus dans des populations commerciales.

Le SYSAAF a coordonné le projet « Quality-Huître » financé par le FEAMP et FranceAgriMer (N° PFEA470018FA1000011) en collaboration avec deux de ses entreprises adhérentes, Vendée Naissain et SATMAR, dans le but de démontrer que la sélection génomique, déjà mise en œuvre par certains sélectionneurs de poissons, pouvait également être appliquée dans le secteur ostréicole. Vendée Naissain est une entreprise fondée en 1991 avec la commercialisation d'huîtres pré-grossies puis s'est développée avec la construction d'une éclosérie, d'une nurserie et la production des premières huîtres sélectionnées. Au début des années 2000, elle débute la production et la commercialisation de naissain triploïde. Aujourd'hui, Vendée Naissain est constituée d'un service recherche et développement, de deux écloséries, deux micro-nurseries, douze nurseries, des parcs de pré-grossissement (en Normandie, Bretagne Nord, Jersey), six unités de criblage et un bâtiment d'expéditions (<https://www.francenaissain.com>). La SATMAR a été créée en 1972 pour la production de naissain d'huîtres plates pour soutenir la production alors en déclin. Dans les années 1980, elle se diversifie en introduisant la production de palourdes et en 1992 elle commercialise les premiers naissains d'huîtres triploïdes en Europe. Aujourd'hui, elle est implantée dans neuf sites avec deux écloséries, six nurseries et trois centres d'expédition (<https://www.satmar.fr>). Chaque entreprise a fourni pour ce projet un lot issu de leurs populations sélectionnées depuis six à huit générations en sélection massale, principalement pour la survie sur estran, la croissance et la morphologie. La structure des schémas de sélection et la gestion de la variabilité génétique ont évolué récemment à l'aide des marqueurs génétiques.

Ce chapitre présente une étude visant à évaluer le potentiel de la sélection génomique pour améliorer des caractères d'intérêts pour l'ostréiculture que sont les caractères de croissance (poids, taille, surface) et de qualité (rendement en chair, couleur de la coquille). Pour cela, la population de Vendée Naissain a été phénotypée en avril 2019 et la population de la SATMAR en novembre 2020 pour les mêmes caractères : poids, longueurs, poids de chair, photo. Les mesures de performances de tous les individus issus des photos ont été obtenues grâce à un programme développé pour le projet « Quality-Huître » sous un logiciel d'analyse d'image open source (Fiji) permettant de normaliser chaque photo et d'acquérir des mesures fiables (Figure 16). Le développement des « pipelines » d'analyses d'images pour les phénotypes de couleur de coquille mais aussi de leur forme a été présenté en poster au congrès *European Aquaculture Society (EAS)* en 2021 « *An image analysis pipeline for molluscs shells phenotyping: development and validation on the Pacific oyster *Crassostrea gigas** » (Jourdan et al., 2021a) (voir Annexe 1)

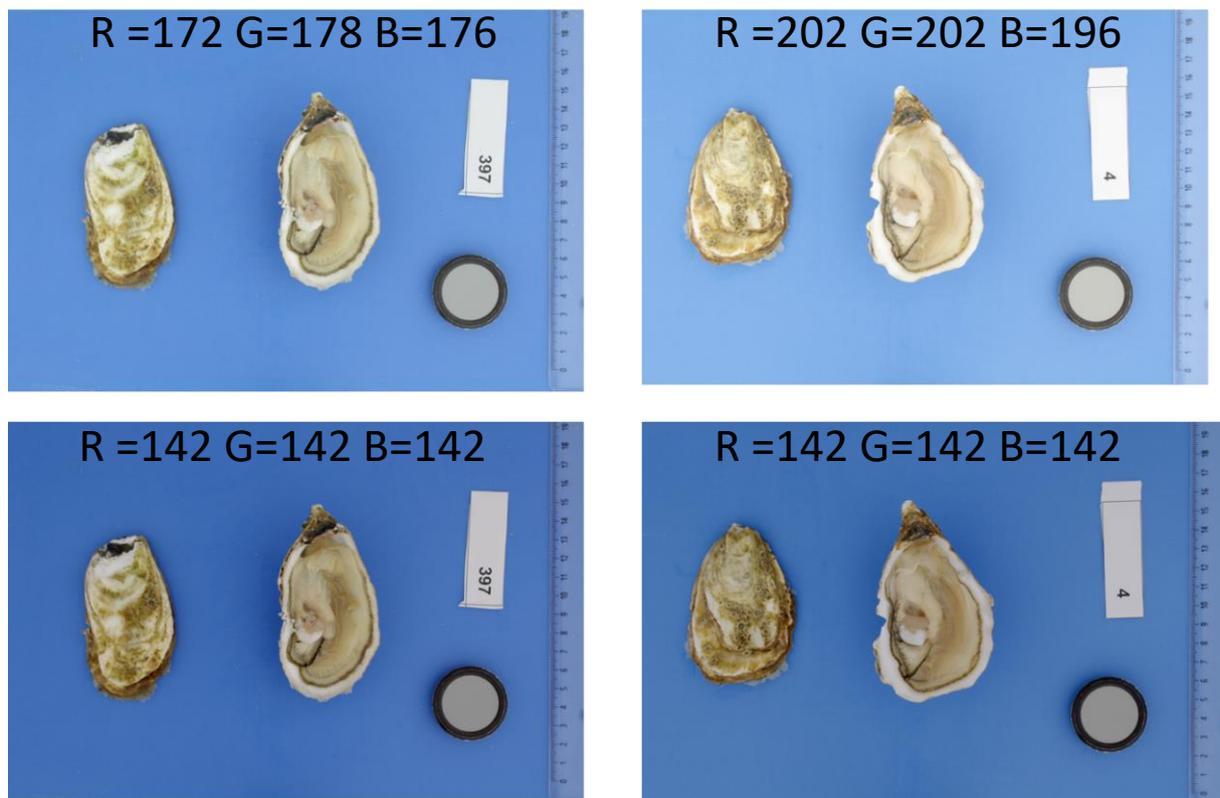


Figure 16: Photos de deux individus (à gauche et à droite) avant (en haut) et après (en bas) le traitement d'image pour la normalisation. Les paramètres de couleur affichés correspondent à la mesure sur la mire grise de chaque photo.

Les objectifs étaient d'estimer les paramètres génétiques pour l'ensemble de ces caractères, d'évaluer l'efficacité de la sélection génomique en comparaison avec une sélection sur pedigree et de proposer une évolution future dans les deux programmes de sélection indépendants en familles mixte à l'échelle commerciale dans des lignées sélectionnées de *C. gigas*, élevées dans des conditions d'élevage courantes en France. Pour cela, une puce Axiom Affymetrix 57K SNP bi-espèces a été utilisée pour caractériser la structure et la diversité génétique de ces deux populations et pour estimer la précision de sélection par validation croisée.

Les différents résultats obtenus dans ce chapitre ont été présentés lors d'une communication orale au *World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP)* en Juillet 2022 et ils ont également fait l'objet d'un d'article « *Potential of genomic selection for growth, meat content and colour traits in mixed-family breeding designs for the Pacific oyster *Crassostrea gigas** » présenté ici et publié dans le journal *Aquaculture*. A la suite de l'article, sont présentés d'autres analyses et résultats complémentaires, acquis sur le même jeu de données, mais qui ne sont pas présentés dans le manuscrit.

2. Article 1 : Potentiel de sélection génomique chez l'huître du Pacifique *Crassostrea gigas* en population commerciale

Potential of genomic selection for growth, meat content and color traits in mixed-family breeding designs for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*

Antoine Jourdan^{1,2}, Romain Morvezen^{1#}, Florian Enez¹, Pierrick Haffray¹, Adeline Lange³, Emilie Vétois⁴, François Allal⁵, Florence Phocas⁶, Jérôme Bugeon⁷, Lionel Degremont², Pierre Boudry⁸

¹ SYSAAF, Station LPGP/INRAE, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes, France; ² Ifremer, RBE, ASIM, Avenue Iede Mus de Loup – Ronces-les-Bains, La Tremblade, 17390, France; ³ France Naissain, 85230 Bouin, France; ⁴ SATMAR, 50760 Gatteville, France; ⁵ MARBEC, Université Montpellier, CNRS, Ifremer, IRD, Palavas-les-Flots, France; ⁶ Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, GABI, 78350 Jouy-en-Josas, France; ⁷ INRAE, LPGP, 35000, Rennes, France; ⁸ Ifremer, Département Ressources Biologiques et Environnement, 29280 Plouzané, France.

corresponding author: romain.morvezen@inrae.fr; +33 2 23 48 53 79

Abstract

Selective breeding programs have been initiated worldwide for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to improve economically important traits such as growth and disease resistance. The emergence of genomic tools has allowed novel perspectives for using genomic selection (GS) in mixed-family breeding designs, which are cheaper and easier to develop than classical breeding schemes. In this study, we evaluated the potential of GS for different growth-related and shell colour traits in two independent commercially selected populations (P1 and P2), based on mixed-family designs. From $\approx 14.5K$ informative SNPs genotyped with the bi-species Axiom Affymetrix 57K oyster array, $\approx 12.5K$ were mapped on the reference genome. A strong heterogeneity of marker density between and within chromosomes was reported, with a low linkage disequilibrium (below 0.1 at 0.1 Mb) between pairs of SNPs. The within-population structure was homogenous for each population, with effective sizes of 107 for P1 and 76 for P2. Heritability was estimated for each trait and population and ranged from 0.08 ± 0.04 (for mean darkness intensity in P1) to 0.56 ± 0.08 (for the mean upper valve b* value in P2) for a pedigree-based model and from 0.04 ± 0.02 (for mean darkness intensity in P1) to 0.69 ± 0.04 (for the mean darkness intensity in P2) for a genomic-based model. Growth-related traits were generally highly genetically and positively correlated with each other, but weakly correlated with colour traits. Accuracy of prediction was generally higher with the genomic model (GBLUP) than with the classical BLUP model, with a maximum gain of accuracy (from 0.38 to 0.66) for flesh weight adjusted by total weight in P2. Accuracy of breeding values was slightly higher for colour traits for P2, with higher heritability estimates. Overall, our results indicate that GS has a good potential to be implemented in mixed-family breeding programs in a shellfish such as *C. gigas*.

Keywords: Mollusc, aquaculture, genomic selection, prediction accuracy, breeding program, linkage disequilibrium

Highlights

- Genomic selection is suitable for commercial mixed-family oyster breeding programs
- Although the SNP array quality was limited it was sufficient for genomic selection
- Growth-related traits were moderately heritable
- There were weak correlations between growth-related traits and colour traits
- Prediction accuracy was higher with the genomic model than with the pedigree model

Introduction

Oyster farming is a major aquaculture activity worldwide. The Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg 1793) has been introduced into numerous countries and is the most widely cultivated oyster species, with a global annual production estimated at 610 k tons in 2020 (FAO, 2022). Its production can be based either on the collection of juveniles (known as seed or spat) from the wild or on hatchery-produced individuals. Reproduction in hatcheries makes it possible to produce sterile triploids and improved seed using selective breeding. Considering its socioeconomic added value, Pacific oyster selective breeding programs are being encouraged internationally (Nascimento-Schulze et al., 2021; Robert and Gérard, 1999) to improve commercially important traits, such as body weight, survival and meat yield, based on morphometric predictors. Selective breeding programs were first successfully applied on traits easy to measure on individuals that are candidates for selection or on families for group traits (de Melo et al., 2016; Evans and Langdon, 2006; Langdon et al., 2003; Li et al., 2011).

Mass selection has been carried out since the mid-1990s in different oyster species, including European flat oyster *O. edulis* (Naciri-Graven et al., 1998), Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Nell et al., 2000), Pacific oyster (Li et al., 2011), American oyster *Crassostrea virginica* (Allen et al., 2021) and Iwagaki oyster *C. nippona* (Y. Hu et al., 2022). It has been widely used to mitigate the mortality caused by Ostreid Herpesvirus 1 (OsHV-1) on *C. gigas* (Dégremont et al., 2015), notably in France. Although effective, mass selection may quickly lead to inbreeding if genetic diversity is not properly monitored, however (Y. Hu et al., 2022; Launey et al., 2001).

As an alternative strategy to individual selection, pedigree-based selective breeding programs have been initiated in several oyster species to estimate breeding values by combining phenotypic information and pedigree records. These programs can be conducted using separate family designs (Evans et al., 2009; Evans and Langdon, 2006; Langdon et al., 2003) or, more recently, mixed-family designs (Vandeputte and Haffray, 2014). The first approach requires a large financial investment in infrastructure and logistic organisation to breed and rear a sufficient number of families before any economic benefit is seen. Common environmental effects (e.g. a tank effect) may also reduce the reliability of estimated breeding values (EBV) of selection candidates, and lead to overestimations of heritability values and expected genetic gains (Gjerde et al., 1996; Hollenbeck and Johnston, 2018; Kong et al., 2015). The second approach involves grouping all families in a single rearing batch and then assigning offspring to their parents using molecular markers. This has already been tested and implemented in *C. gigas* using microsatellites or SNPs (Kong et al., 2015; Lapègue et al., 2014; Matson, 2011; Wan et al., 2020, 2017). This alternative does not require specific facilities and should limit environmental variance and allow a more accurate estimate to be made of their breeding values. The mixed-family approach is more advanced in fish and crustaceans than in bivalves, where only the genetic parameters have so far been estimated (Enez et al., 2018; Kong et al., 2015; Smits et al., 2020).

To our knowledge, the suitability of this approach for commercial-scale Pacific oyster breeding programs has not yet been evaluated.

In recent years, a revolution in genetic selection in livestock and crop species has taken place based on the availability of high-density genomic information (Meuwissen et al., 2016). Next-generation sequencing (NGS) and genotyping-by-sequencing (GBS) tools have been developed for different oyster species (McCarty et al., 2022; Vu et al., 2021; Yang et al., 2022). However, they do not provide the same set of markers from one population to another (e.g. between training population and breeding population) and are dependent on DNA quality, which limits their potential to develop repeatable genomic analyses. Alternatively, SNP arrays have been developed for some bivalve species such as the silver-lip pearl oyster *Pinctada maxima*, with an Illumina 3 k iSelect custom array (Jones et al., 2017), or in the Pacific oyster, with a high-density SNP 190K SNP array (Qi et al., 2017) or the medium bi-species (Pacific oyster and European flat oyster) 57K SNP array (Gutierrez et al., 2017). SNP arrays have been used for various applications in aquaculture species, including genome-wide association studies (GWAS), characterisation of genetic resources, genome and QTL mapping, and genomic selection (GS) (Yáñez et al., 2022) but not as widely in molluscs.

Genomic selection is particularly pertinent for traits that are expensive or difficult to measure (e.g. resistance to diseases, meat quantity) because less phenotypic data is needed to obtain similar accuracies from EBVs resulting from GS and pedigree-based selection. GS can improve the selection response by capturing both within and between family genetic variation components. In aquaculture, the salmon industry has been leading the way in GS for several years (Correa et al., 2017; Ødegård et al., 2014; Robledo et al., 2018; Tsai et al., 2016, 2015). To date, more and more aquaculture species are following this trend (see for review (Allal and Nguyen, 2022; Boudry et al., 2021; Houston et al., 2020; Song et al., 2023; Yáñez et al., 2022; Zenger et al., 2019), such as rainbow trout, European sea bass, sea bream, Nile tilapia, Channel catfish or whiteleg shrimp. The recent development of genotyping tools in molluscs has so far resulted in a relatively limited number of studies on the potential of genomic selection. GS has been investigated in the Portuguese oyster for morphometric traits, edibility traits and disease traits (Vu et al., 2021), in the American oyster for low salinity tolerance (McCarty et al., 2022) and in the silver-lip oyster for pearl quality traits (Jones et al., 2017). Genetic selection for growth traits has been studied in the triangle sail mussel (Wang et al., 2022), European flat oyster (Penaloza et al., 2022) and Pacific oyster (Gutierrez et al., 2018). For the latter, GS to improve resistance to OshV-1 has also been considered (Gutierrez et al., 2020).

The aim of our study was to assess the potential of genomic selection for growth, meat content and color traits in two independent mixed-family breeding designs at commercial scale in *C. gigas* selected lines. Using a bi-species Axiom Affymetrix 57K SNP array (Gutierrez et al., 2017), we first characterised the genetic structure and diversity of these two populations. Then, we estimated genetic parameters for commercial traits (growth, yield, shell colour, etc.). Finally, we compared the accuracies of genomic selection and pedigree-based selection to provide recommendations to optimise selection in two mixed-family selective breeding programs.

Materials and Methods

Biological material

Broodstock from two French breeding companies (Vendée Naissain and SATMAR) was used. This came from two populations that had undergone six to eight generations of mass selection, mostly for resistance to OshV-1, growth and morphology, and whose genetic variability had been monitored with genetic markers (Gutierrez et al., 2017; Lapègue et al., 2014) in the two last generations. The first

population (P1), resulted from seven full-factorial crosses (factorials) of ten males and ten females each, as proposed by Dupont-Nivet et al. (2006) to minimise inbreeding and increase genetic links between families. Three of these males were used in two of the factorial crosses and one in three of them, leading to a total of 65 males and 70 females potentially generating up to 700 full-sib families. Gill tissue from each parent was sampled and stored in 95% ethanol. Sperm of each male and eggs of each female were individually collected by scarification of the gonads. Sperm mobility was checked visually under the microscope and egg numbers for all females were estimated by cell counting. Sperm from each male was subdivided into 10 beakers, each containing approximately 400 000 oocytes from a single different female. The crosses were performed over two consecutive days. In each case, fertilisation was assessed visually after 20 minutes, and the embryos were rinsed. Embryos were mixed per factorial in a 200-L tank. The hatching rates were estimated at day 1 for factorials 1, 2, 3, 4 and at day 2 for factorials 5, 6 and 7. After counting, D-larvae from all factorials were grouped together, with in equal proportions from each factorial, into a single batch constituting population P1. Larvae were reared following the company standard larval and nursery protocols of the hatchery following the FAO recommendations (Helm et al., 2004). Seed was transferred into mesh bags for inshore rearing at an average size of 6 mm and transported to a growing site (Baie des Veys, Normandy).

The second population (P2) was produced following a similar protocol with six full-factorial crosses of ten males and eight females each, potentially generating up to 480 full-sib families. The fertilisation process was similar to P1. Then, larvae were mixed by factorial in 10 000-L tanks and reared separately following the company standard larval and nursery protocols of the hatchery following the FAO recommendations (Helm et al., 2004). At 3 months old and an average size of 6 mm, seed were transferred into mesh bags for inshore rearing in three growing sites (Morsalines, Normandy; Saint Vaast, Normandy; Landéda, Brittany). When 7 months old, the oysters were collected, pooled between sites and reared on a single site (Morsalines), still in six separate factorial batches.

Phenotyping

Populations P1 and P2 were phenotyped when 36 and 31 months old, respectively, which is a common age for oysters to reach commercial size (\approx 60 g) in France. For P2, individuals were randomly and equally sampled within each six-factorial batch. All individuals were phenotyped for the following growth-related traits: Total Individual Weight Before Opening (TW), Shell Length (L), Shell Width (W), Shell Height (H), Upper (UVW) and Lower Valve Weight (LVW), and Wet Flesh Weight (FW). Additionally, traits related to meat content and shell colour of the oyster were also recorded. Flesh Weight Adjusted for Total Weight (FWA) was estimated using the residual of the linear regression between flesh weight and total weight independently in each population. A digital photo of the external right valve (upper/flat) was taken in a tent for ambient light homogenisation between individuals, using a Canon EOS 2000D camera. Images were analysed with an automatic pipeline, using FIJI software (Jourdan et al., 2021) to measure the surfaces of the two valves and the mean external colour of the upper valve, estimated in the CIE LAB space (Robertson, 1977). $L^*a^*b^*$ is a device-independent colour space, providing colour that is consistent and very close to human perception and is most suitable for representation of surfaces or materials illuminated by a light source as less affected by the degree of curvature, shadows and gloss of surfaces (Mendoza et al., 2006). After setting a threshold for the dimension L^* starting at a value of 30 to determine which pixels were dark, we could calculate the Percentage of Dark Area (PDA) and the Mean Darkness Intensity (MDI) of all pixels over this threshold. For all traits, outlying values deviating by more than four standard deviations for all phenotypes were excluded from the analyses.

Genotyping

All parents and offspring were genotyped on the bi-species Axiom Affymetrix 57K oyster array, Axiom_Oyster02 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) comprising 40 625 markers for *C. gigas* (Gutierrez et al., 2017). Genotyping was performed at the Gentyane INRAE Platform (Clermont-Ferrand, France). Quality control analyses were carried out using the Axiom Analysis Suite software (AxAS) with the default best practice workflow suggested by manufacturer. Firstly, individuals with a data quality control (DQC) greater than 0.82 and a quality control (QC) call rate greater than 97% were kept. Secondly, this quality analysis allowed us to filter markers with a call rate greater than 98.5%, a minor allele frequency (MAF) greater than 0.01, a Hardy-Weinberg deviation test p-value greater than 0.0001 and a Fisher's linear discriminant (FLD) that measured the clustering quality of SNPs greater than 5.3 rather than 3.6. Fisher's linear discriminant is essentially the smallest distance between the heterozygous cluster centre and the two homozygous cluster centres in the X dimension (Axiom Genotyping Solution Data Analysis Guide, 2011). The filters applied to the SNPs were more stringent than in the best practice workflow, which explains the limited number of markers, but the quality of the genotyping was improved for the subsequent analyses. For the number of SNPs after each filtration step in P1 and P2, see Supplementary Table 1.

Parentage assignment and genetic characterisation of the population

Parentage assignment was performed using APIS (Griot et al., 2020), with an error rate of 1%. The 1000 best SNPs, selected with a call rate greater than 99.5% and ranked on the MAF value were used. The minimum MAF values were 0.45 and 0.42 for P1 and P2, respectively. Parents without any offspring were excluded from the subsequent analysis.

The number of parents required to maintain genetic diversity, or allele frequencies, within a population was estimated using estimates of effective population size (N_e). The two metrics used to estimate N_e : (N_{ev}) were based on the number of parents and the variance of reproductive success (Chevassus, 1989), whereas (N_{et}) was based on linkage disequilibrium (LD) (D'Ambrosio et al., 2019).

As the individuals were produced by factorials, N_{ev} could be estimated within each factorial assuming random mating and equal parent representation among the offspring according to Falconer and Mackay (1996): $N_e = 4N_m N_f / (N_m + N_f)$, where N_m and N_f are the numbers of sires and dams, respectively, with offspring in each factorial. To take into account the variability in family representation, N_e was also calculated according to equation 7 from Chevassus (1989). The N_{ev} for P1 and P2 populations were obtained by summing the N_{ev} per factorial.

For the calculation of the N_{et} based on the expected LD, we followed the approach proposed by D'Ambrosio et al. (2019) using estimates of genetic distances between SNPs (i.e. expressed in Morgans). These distances were derived from the physical distance between SNPs and the recombination rate estimated as the average across all 10 chromosomes. Three different recombination rates (1.8, 2.0 and 2.2) were considered based on published estimates (Gagnaire et al., 2018; Yin et al., 2020).

The rate of inbreeding (ΔF) can be calculated for a population based on the N_e (Falconer and Mackay, 1996), expressed as:

$$\Delta F = \frac{1}{2N_e}$$

To evaluate potential genetic sub-structuring of each population, and then potential bias, a principal component analysis (PCA) was carried out with the filtered markers on the ade4 package (Dray and Dufour, 2007) developed under R (R Core Team, 2020).

SNP mapping, genome coverage and linkage disequilibrium estimation

All markers of the array with their flanking regions were blasted on the reference genome (cgigas_uk_roslin_v1, GenBank accession number: GCA_902806645.1) (Peñaloza et al., 2021). To map SNPs and considering the very high polymorphism in the oyster genome, four mismatches were accepted over a length of about 70 bases. Only the markers located at a unique position on the reference genome were kept for further analysis (Supplementary table 3). Linkage disequilibrium (LD), was estimated using the squared correlation based on genotypic allele counts (number of non-reference alleles at each locus) using the PLINK v1.9 software (Chang et al., 2015). Pairwise LD between all SNPs and adjacent SNPs in a 75-Mb window were computed for each linkage group and population. All pairs of SNPs were sorted based on the distance between the two markers. The mean r^2 values were then determined using the average distances between SNPs: 0 kb for markers less than 15 kb apart; 30, 60, 90, etc. up to 1020 kb with a 30 kb-window (5–15 kb; 15–25 kb; 25–35 kb; etc.).

Estimation of genetic parameters

Estimated breeding values (EBV) and heritabilities were estimated with the BLUPF90 software package (Miszta et al., 2002) under univariate BLUP linear mixed models:

$$\mathbf{y}_i = \mathbf{X}_i \mathbf{b}_i + \mathbf{Z}_i \mathbf{u}_i + \mathbf{e}_i \quad (1)$$

where \mathbf{y}_i is the performance vector for trait i explained by \mathbf{u}_i , \mathbf{b}_i and \mathbf{e}_i , which are the vectors of additive genetic effects, the vector of the fixed effect of mesh bags for P1 and the vector of residual errors, respectively. For population 2 a group effect equivalent to the factorial was considered but degraded the model with a higher AIC. A mean effect was taken into account for both populations. \mathbf{X}_i is the incidence matrix for \mathbf{b}_i , \mathbf{Z}_i is the incidence matrix for \mathbf{u}_i . $\mathbf{e}_i \sim N(0, I\sigma^2_e)$ is a normally distributed vector containing the residuals with mean zero, I is the identity matrix and σ^2_e is the residual variance.

Under the BLUP model, the (co)variance structure for the breeding values was calculated using the pedigree relationship matrix (A), where \mathbf{u}_i follows a normal distribution $N(0, A\sigma^2_a)$ with mean zero, and σ^2_a is the additive genetic variance.

Genomic BLUP (GBLUP) uses the same approach as the BLUP model described in eq. (1) except that the pedigree relationship matrix (A) is replaced by a genomic relationship matrix (G) (VanRaden, 2008).

Variance components were estimated using the average information restricted maximum likelihood algorithm (Gilmour et al., 1995).

Heritability for BLUP and GBLUP models was estimated by the ratio of the additive genetic variance σ^2_a and total phenotypic variance $\sigma^2_p = \sigma^2_a + \sigma^2_e$.

Genetic correlations were estimated using bivariate GBLUP linear mixed models for each pair of traits.

Accuracy

For both BLUP and GBLUP models, the prediction accuracy, often named selection accuracy, was estimated using 40 replicates of standard five-fold cross-validation sets (training population 80%, validation population 20%). Prediction accuracy was calculated as the correlation between the EBVs and the corrected phenotypes of individuals from the validation population divided by the square root of the heritability estimated using the genomic-based relationship matrix (Legarra et al., 2008). Then, accuracy values obtained for both pedigree and genomic EBVs were compared.

Results

1. Genotyping

1.1. Quality

For P1, 130 of the 135 parents and 1131 of the 1135 offspring passed the QC filtering. In P2, 100 of the 104 parents and 1032 of the 1046 offspring passed the QC filtering. Four parents are missing from P2 because there was no biological material for genotyping. Quality analysis led us to retain 14,469 SNPs (35.6%) and 14 452 SNPs (35.6%) from the 40 625 markers available for P1 and P2, respectively. Between the two populations, 8524 (59 %) SNPs were shared, 5945 and 5928 were unique to P1 and P2, respectively. Among the 5945 SNPs unique to P1, some were excluded from P2 because of a call rate lower than 98.5 (14%), monomorphism (10%), being below the MAF (> 0.01) or Hardy-Weinberg equilibrium deviation p-value (> 0.0001) thresholds (62%), or not passing the best practice workflow recommended by the manufacturer (5%), nor the modified FLD Axiom genotyping filter (9%). Among the 5928 SNPs unique to P2, some were excluded from P1 because of a call rate lower than 98.5 (37%), monomorphism (14%), being below the MAF and Hardy-Weinberg equilibrium deviation p-value thresholds (24%), or not passing the best practice workflow (3%), nor the modified FLD Axiom genotyping filter 22%.

1.2. SNP mapping and genome coverage

In all, 12 454 and 12 267 SNPs matching our mapping requirement were located on the reference genome, representing a loss of 2015 and 2185 markers for P1 and P2, respectively. The positions of markers on the chromosomes are illustrated in Figure 1. The average number of SNPs per Mb range between 2.33 and 36.44, depending on the chromosomes (Table 1) and 30% of all 1 Mb segments have less than 5 SNPs. In both populations, SNP density is not homogeneous across the genome. SNPs are numerous for chromosomes 1, 3, 6, 7 and 10, with denser regions with more than 70 SNPs per Mb (see Supplementary Figures 3 and 4). Conversely, chromosomes 4, 5, 8, and 9 contain fewer SNPs per Mb. Despite its greater length (73 Mb), chromosome 2 has the least SNP coverage, with about 200 markers in each population and large areas (>1 Mb) without any SNPs. The low density of markers implies high average distances between adjacent SNPs that range between 27 kb and 432 kb, depending on the chromosome. Although a large number of markers were not identical between populations, they generally covered the same regions in similar proportions. By slicing the genome by 1-Mb windows, 381 Mb out of a total of 578 Mb (66%) were shown to have a difference in the number of SNPs between P1 and P2 that was less than 5.

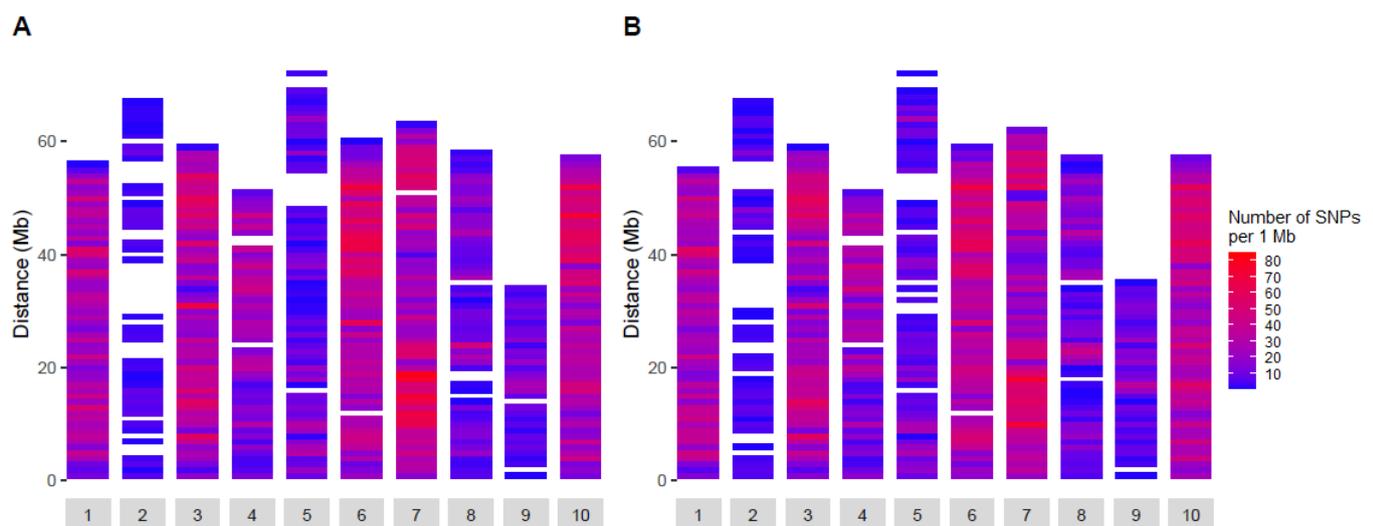


Figure 1: Density map of valid SNPs on each chromosome in population 1 (A) and population 2 (B)

Table 1. Number of SNPs, mean distance and mean r^2 between adjacent SNPs in each linkage group in population 1 (P1) and population 2 (P2).

| Chromosome | Number of SNPs | | Average number of SNPs per Mb | | Average distance between adjacent SNPs (kb) | | Average r^2 between adjacent SNPs | |
|------------|----------------|------|-------------------------------|-------|---|--------|-------------------------------------|-------|
| | P1 | P2 | P1 | P2 | P1 | P2 | P1 | P2 |
| 1 | 1510 | 1571 | 26.98 | 28.07 | 36.45 | 34.86 | 0.107 | 0.090 |
| 2 | 155 | 195 | 2.33 | 2.93 | 432.05 | 343.55 | 0.066 | 0.056 |
| 3 | 1886 | 1791 | 31.98 | 30.37 | 30.75 | 32.39 | 0.104 | 0.084 |
| 4 | 1004 | 983 | 19.71 | 19.29 | 50.00 | 50.90 | 0.110 | 0.082 |
| 5 | 590 | 533 | 8.21 | 7.42 | 121.14 | 133.85 | 0.091 | 0.081 |
| 6 | 2098 | 2067 | 34.98 | 34.47 | 28.18 | 28.52 | 0.108 | 0.084 |
| 7 | 2295 | 2124 | 36.44 | 33.73 | 27.03 | 29.06 | 0.120 | 0.093 |
| 8 | 617 | 672 | 10.66 | 11.60 | 92.48 | 84.69 | 0.114 | 0.096 |
| 9 | 299 | 328 | 8.57 | 9.40 | 112.43 | 105.41 | 0.118 | 0.074 |
| 10 | 2000 | 2003 | 35.11 | 35.16 | 28.13 | 28.09 | 0.094 | 0.085 |

1.3. Linkage disequilibrium

Figure 2 shows that the linkage disequilibrium (LD) strongly decreases with distance between pairs of SNPs for both populations up to a distance of 0.1 Mb. At greater distances, LD continues to decline and stabilises. P1 has a higher LD than P2 throughout the genome. On average over the genome, the r^2 values under 15 kb distance between two SNPs are 0.12 and 0.10 for P1 and P2, respectively. Linkage disequilibrium values are generally low (e.g. Table 1: < 0.120 for P1; < 0.096 for P2), even between adjacent SNPs. This is particularly the case for chromosomes 2, 5, and 9 in P2, for which the distances between adjacent SNPs were higher.

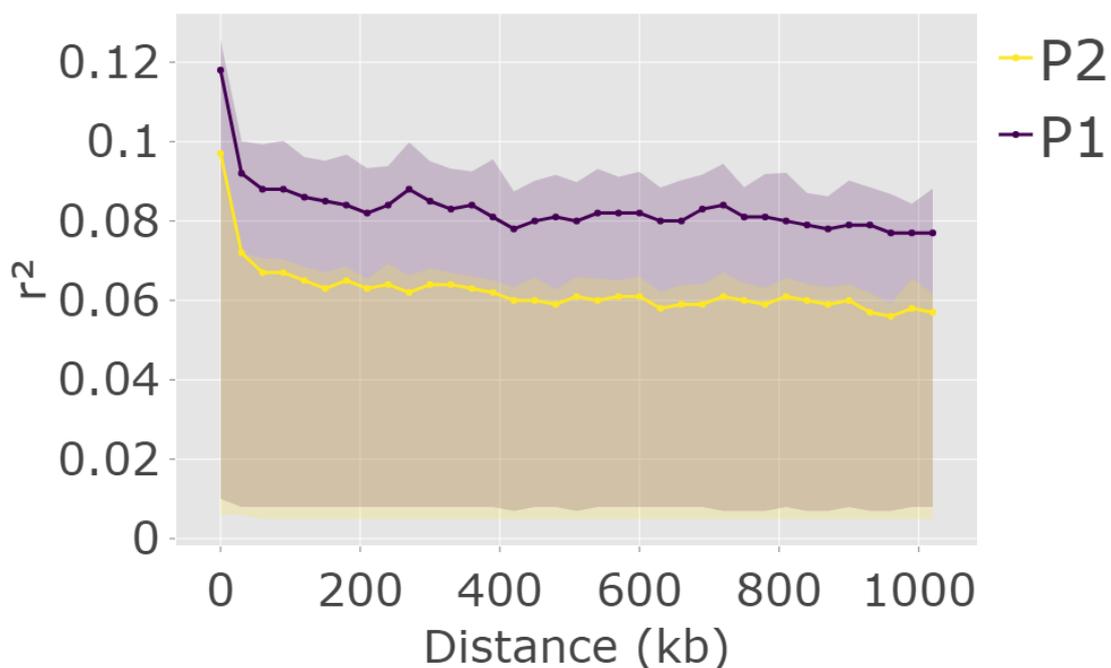


Figure 2 : Linkage disequilibrium (r^2 , lines) and the interquartile intervals (shaded areas) as a function of genomic distance: purple for population 1 (P1) and yellow for population 2 (P2).

1.4. Parentage assignment

Parentage assignment allowed the reconstruction of the pedigree of 1116 and 915 offspring for P1 and P2, with assignment rates reaching 98.7% and 88.1%, respectively. These offspring were assigned to a single couple of parents, corresponding to the expected crossing designs (see Supplementary Figures 1 & 2). In P2, missing genotypes for four parents (three females in three factorials and one male) is likely to explain the non-assignment of 10.7% of the progeny. Table 2 presents the remaining observed number of full-sib families as well as the minimum and maximum numbers of assigned offspring per full-sib family, male and female parents, as well as the variances of contribution of sire (V_m) and dam (V_f) reproductive success.

Table 2. Total, minimum, maximum and mean numbers of assigned offspring per full-sib family, sire and dam as well as variance of reproductive success in sires (V_m) and dams (V_f) in population 1 (P1) and population 2 (P2).

| | n | | Minimum number of offspring | | Maximum number of offspring | | Mean number of offspring | | Variance of reproductive success | |
|-----------|-----|-----|-----------------------------|----|-----------------------------|----|--------------------------|-------|----------------------------------|--------|
| | P1 | P2 | P1 | P2 | P1 | P2 | P1 | P2 | P1 | P2 |
| Full-sibs | 454 | 305 | 1 | 1 | 12 | 20 | 2.70 | 2.99 | - | - |
| Sires | 64 | 59 | 2 | 3 | 59 | 56 | 19.13 | 15.46 | 148.05 | 152.60 |
| Dams | 69 | 45 | 1 | 3 | 53 | 66 | 17.74 | 20.27 | 117.40 | 163.70 |

1.5. Effective size (N_e) of populations

The expected effective sizes calculated according to Falconer and Mackay (1996) from the initial crossing schemes were 140 and 107 for P1 and P2, respectively. As some individuals were not assigned to their parents (see section 1.4), these expected sizes were adjusted to 135 and 102. The estimated values of N_e with both metrics and for both populations are shown in Table 3. Taking into account the variance in reproductive success by sex (V_m and V_f , Chevassus (1989)), the derived N_{ev} values were 107 for P1 and 76 for P2. In both populations, variance in reproductive success had limited effects on N_{ev} . For the effective size of populations based on the expected LD (N_{et}), the values ranged between 66 and 84 for P1 and between 59 and 75 for P2, depending on the recombination rate considered. The changes in inbreeding coefficient with a minimal theoretical increase in inbreeding was between 0.47% and 0.76% for P1 and between 0.66% and 0.85% for P2 at each generation.

Table 3. Estimation of the effective population size in P1 and P2 based, in the first row, on the variance of reproductive success (N_{ev}) or based on the linkage disequilibrium considering three different recombination rates (N_{et}); estimations of the rate of inbreeding (ΔF) are also given.

| Recombination rate | N_{ev} or N_{et} | | ΔF (%) | |
|--------------------|----------------------|----|----------------|------|
| | P1 | P2 | P1 | P2 |
| - | 107 | 76 | 0.47 | 0.66 |
| 1.8 | 84 | 75 | 0.60 | 0.67 |
| 2.0 | 74 | 66 | 0.68 | 0.76 |
| 2.2 | 66 | 59 | 0.76 | 0.85 |

1.6. Structure of populations under selection

Figure 3 illustrates the results of the principal component analysis, showing the structure of P1 and P2 by factorial cross. The two principal components expressed 4.9% and 3.1% of the variance for P1 and 3.4% and 2.7% for P2. The two populations were homogeneous overall, except for factorial eight in P2, for which offspring were more isolated from the others. As the variance expressed on the X axis for the P2 population is limited (Figure B), this result suggests that P1 and P2 could both be considered as homogeneous populations. This allowed us to pursue the analysis of GS under good conditions.

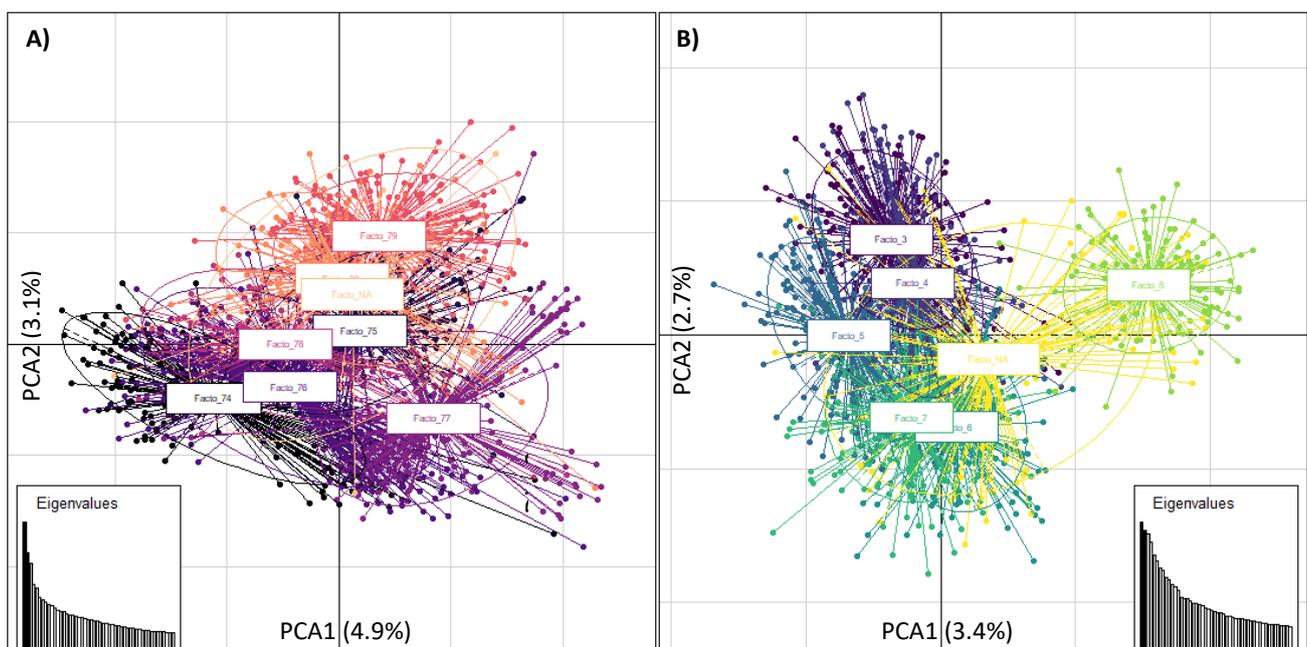


Figure 3 : First two axes and associated variances resulting from the principal component analysis (PCA) of genotypic data from population 1 (A) and population 2 (B). The ellipses are constructed with axes defined as 1.5 times the standard deviation of the projections of individual coordinates on the axes.

2. Genomic selection

2.1. Phenotyping

Table 4 presents descriptive statistics on the recorded traits. Depending on the traits considered, between 1232 and 1249 individuals were analysed for P1 and between 1067 and 1077 individuals for P2. The coefficients of variation were mostly different between the populations for Lower (cupped) Valve Weight, Upper (flat) Valve Weight, Total Weight and Mean Upper Valve a* Value and were similar for the other traits.

Table 4. Summary statistics of studied oyster traits in populations P1 (population 1) and P2 (population 2).

| Traits | | N | | Mean | | Standard error | | Minimum | | Maximum | | CV (%) | |
|-------------------------|-------------------------|------|------|-------------|-------------|----------------|--------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------|----|
| | | P1 | P2 | P1 | P2 | P1 | P2 | P1 | P2 | P1 | P2 | P1 | P2 |
| Height | (H, mm) | 1236 | 1076 | 29.04 | 27.38 | 4.19 | 3.91 | 16.51 | 15.20 | 49.57 | 42.23 | 14 | 14 |
| Width | (W, mm) | 1236 | 1076 | 50.23 | 47.11 | 6.79 | 5.39 | 28.97 | 31.14 | 76.26 | 64.78 | 14 | 11 |
| Length | (L, mm) | 1236 | 1077 | 88.22 | 84.22 | 11.88 | 9.96 | 55.19 | 54.98 | 129.73 | 117.55 | 13 | 12 |
| Wet Flesh Weight | (FW, g) | 1236 | 1076 | 7.49 | 4.55 | 2.66 | 1.45 | 0.64 | 1.36 | 17.81 | 10.98 | 36 | 32 |
| Flesh Weight Adjusted | (FWA) | 1236 | 1075 | 0 | 0.04 | 1.17 | 0.73 | -4.17 | -2.77 | 5.05 | 3.17 | - | - |
| Lower Valve Weight | (LVW, g) | 1232 | 1076 | 28.36 | 24.78 | 9.46 | 5.92 | 6.25 | 11.60 | 63.79 | 47.05 | 33 | 24 |
| Upper Valve Weight | (UVW, g) | 1232 | 1075 | 16.93 | 11.89 | 5.83 | 2.90 | 3.72 | 5.07 | 38.13 | 22.66 | 34 | 24 |
| Total Weight | (TW, g) | 1236 | 1076 | 67.65 | 57.45 | 21.86 | 12.90 | 15.88 | 27.40 | 144.16 | 108.30 | 32 | 22 |
| Lower Valve Area | (LVA, mm ²) | 1249 | 1073 | 3540.8 3 | 3314.2 6 | 845.91 | 576.97 | 1182.1 5 | 1738.5 1 | 6423.5 2 | 5546.7 2 | 24 | 17 |
| Upper Valve Area | (UVA, mm ²) | 1249 | 1072 | 2862.1 3 | 2491.6 | 685.87 | 452.47 | 1031.7 8 | 1268.4 8 | 5409.8 4 | 4198.9 8 | 24 | 18 |
| L* Value | (LV) | 1249 | 1074 | 42.70 | 45.90 | 5.65 | 5.46 | 24.93 | 25.81 | 59.61 | 59.43 | 13 | 12 |
| a* Value | (AV) | 1249 | 1074 | 3.00 | 1.40 | 1.58 | 1.33 | -2.12 | -2.16 | 8.63 | 6.70 | 53 | 95 |
| b* Value | (BV) | 1249 | 1074 | 19.79 | 19.17 | 2.58 | 2.60 | 10.53 | 9.14 | 28.65 | 28.11 | 13 | 14 |
| Mean Darkness Intensity | (MDI) | 1249 | 1074 | 22.97 | 21.32 | 1.51 | 2.36 | 16.78 | 12.57 | 26.53 | 26.59 | 7 | 11 |
| Percent of Dark Area | (PDA, %) | 1249 | 1067 | 21.40 | 16.28 | 12.07 | 9.38 | 1.16 | 0.85 | 67.93 | 60.63 | 56 | 58 |

2.2. Estimation of genetic parameters

Heritability estimates of Height, Weight and Length showed low to moderate values, ranging from 0.15 (\pm 0.05) to 0.31 (\pm 0.07) (Table 5). Heritability estimates for these traits were nearly always equivalent whether they were based solely on pedigree information or if genomic information was considered. The only exceptions were Width, which had a higher heritability with only pedigree information in P2, and Flesh Weight Adjusted for TW, which had a higher heritability with genomic information in both populations.

For growth traits, there were no large differences between the two populations except for Upper Valve Weight, which had a pedigree-based estimated heritability of 0.20 (\pm 0.05) for P1 and 0.31 (\pm 0.07) for P2 (this was also found using genomic-based estimation with 0.22 (\pm 0.04) and 0.29 (\pm 0.04), respectively).

For colour traits, greater differences between the two populations were observed. The heritability of the Mean Upper Valve b* (BV) for P1 was 0.35 (\pm 0.06) to 0.34 (\pm 0.05) while for P2 it was 0.56 (\pm 0.08) to 0.54 (\pm 0.05). For the mean value of L* (LV), heritability ranged between 0.23 (\pm 0.06) to 0.18 (\pm 0.04) for P1 to a heritability of 0.45 (\pm 0.08) to 0.46 (\pm 0.05) for P2. The mean value of a* (AV) was very limited for the two populations (\approx 0.11) and even lower with the GBLUP model in P1 (0.04 \pm 0.02). The MDI had a very low estimated heritability in P1 (<0.1), while in P2 there were high estimates of 0.54

(± 0.08) in BLUP to 0.69 (± 0.04) in GBLUP. The same was observed for the Percent of Dark Area, a heritability lower than 0.2 for P1 and higher than 0.5 for P2.

Table 5. Heritability estimates and their standard errors using BLUP and GBLUP models. P1: population 1, P2: population 2.

| | | P1 h ² (SE) | | P2 h ² (SE) | |
|-------------------------|-----|------------------------|-------------|------------------------|-------------|
| | | BLUP | GBLUP | BLUP | GBLUP |
| Height | H | 0.20 (0.05) | 0.21 (0.04) | 0.15 (0.05) | 0.16 (0.04) |
| Width | W | 0.17 (0.05) | 0.21 (0.04) | 0.31 (0.07) | 0.23 (0.04) |
| Length | L | 0.28 (0.06) | 0.26 (0.04) | 0.22 (0.06) | 0.19 (0.04) |
| Wet Flesh Weight | FW | 0.22 (0.06) | 0.25 (0.04) | 0.26 (0.06) | 0.24 (0.04) |
| Lower Valve Weight | LVW | 0.22 (0.05) | 0.24 (0.04) | 0.20 (0.05) | 0.18 (0.04) |
| Upper Valve Weight | UVW | 0.20 (0.05) | 0.22 (0.04) | 0.31 (0.07) | 0.29 (0.04) |
| Total Weight | TW | 0.19 (0.05) | 0.23 (0.04) | 0.23 (0.06) | 0.21 (0.04) |
| Lower Valve Area | LVA | 0.22 (0.05) | 0.24 (0.04) | 0.30 (0.06) | 0.25 (0.04) |
| Upper Valve Area | UVA | 0.22 (0.05) | 0.25 (0.04) | 0.30 (0.06) | 0.26 (0.04) |
| Flesh Weight Adjusted | FWA | 0.21 (0.05) | 0.27 (0.04) | 0.19 (0.06) | 0.29 (0.05) |
| L* Value | LV | 0.23 (0.06) | 0.18 (0.04) | 0.45 (0.08) | 0.46 (0.05) |
| a* Value | AV | 0.11 (0.04) | 0.04 (0.02) | 0.11 (0.04) | 0.11 (0.03) |
| b* Value | BV | 0.35 (0.06) | 0.34 (0.05) | 0.56 (0.08) | 0.54 (0.05) |
| Mean Darkness Intensity | MDI | 0.08 (0.04) | 0.04 (0.02) | 0.54 (0.08) | 0.69 (0.04) |
| Percent of Dark Area | PDA | 0.18 (0.05) | 0.13 (0.04) | 0.52 (0.08) | 0.54 (0.05) |

The genetic correlations between traits were similar in the two populations (Table 6). First, correlations between growth traits were high and positive (greater than 0.5) with slightly lower correlations for Width and Height, especially in P2 (W: 0.16–0.84; H: 0.16–0.70). Genetic correlations of Flesh Weight Adjusted with other growth traits were very low (less than 0.16). Then, regarding genetic correlations between colour traits, models for Mean Upper Valve a* Value (AV) and Mean Darkness Intensity (MDI) failed to converge for P1. For the remaining correlations between colour traits, the same trends were observed in both populations, with strong correlations for Mean Upper Valve L* Value (LV), Mean Upper Valve b* Value (BV), MDI and Percent of Dark Area (PDA). The least correlated colour trait was AV, with a range between 0.27 and 0.54 in P2. Colour traits were positively correlated except AV and PDA, which were negatively correlated with the other colour traits in both populations. Finally, for correlations between colour and growth traits, BV in P1 was the trait that was the most correlated with growth traits (ranging from 0.33 to 0.53, excluding FWA). All the other traits were weakly correlated (less than 0.32). In P2, the colour and growth traits were weakly correlated, with the highest correlation of 0.33 for LV with L and with LVA.

Table 6. Genetic correlations and standard errors for growth and colour traits in population 1 (above the diagonal) and population 2 (below the diagonal). TW: total weight, H: height, W: width, L: length, FW: wet flesh weight, LVW: lower valve weight, UVW: upper valve weight, LVA: lower valve area, UVA: upper valve area, FWA: flesh weight adjusted by TW, LV: mean upper valve L* value, AV: mean upper valve a* value, BV: mean upper valve b* value, MDI: mean darkness intensity, PDA: percent of dark area

| | TW | H | W | L | FW | LVW | UVW | LVA | UVA | FWA | LV | AV | BV | MDI | PDA |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| TW | | 0.81 (0.06) | 0.89 (0.04) | 0.85 (0.05) | 0.9 (0.03) | 0.96 (0.01) | 0.88 (0.04) | 0.95 (0.02) | 0.92 (0.02) | 0.06 (0.15) | 0.21 (0.16) | -0.22 (0.34) | 0.53 (0.11) | -0.15 (0.39) | -0.25 (0.18) |
| H | 0.70 (0.10) | | 0.49 (0.13) | 0.56 (0.11) | 0.78 (0.07) | 0.8 (0.06) | 0.62 (0.10) | 0.61 (0.10) | 0.56 (0.11) | 0.16 (0.15) | 0.26 (0.17) | -0.17 (0.36) | 0.43 (0.13) | 0.02 (0.45) | -0.29 (0.25) |
| W | 0.50 (0.12) | 0.16 (0.17) | | 0.66 (0.10) | 0.78 (0.07) | 0.79 (0.07) | 0.84 (0.06) | 0.9 (0.04) | 0.91 (0.04) | 0.01 (0.16) | 0.15 (0.18) | -0.32 (0.44) | 0.33 (0.13) | -0.16 (0.41) | -0.18 (0.20) |
| L | 0.83 (0.07) | 0.39 (0.17) | 0.43 (0.15) | | 0.78 (0.06) | 0.8 (0.06) | 0.73 (0.07) | 0.91 (0.03) | 0.87 (0.04) | 0.1 (0.14) | 0.2 (0.16) | -0.16 (0.70) | 0.5 (0.11) | -0.29 (1.58) | -0.20 (0.18) |
| FW | 0.83 (0.05) | 0.65 (0.12) | 0.47 (0.12) | 0.7 (0.09) | | 0.83 (0.05) | 0.71 (0.08) | 0.88 (0.04) | 0.84 (0.05) | | 0.15 (0.16) | | 0.4 (0.12) | | -0.17 (0.18) |
| LVW | 0.87 (0.04) | 0.68 (0.11) | 0.46 (0.14) | 0.7 (0.10) | 0.67 (0.09) | | 0.75 (0.07) | 0.87 (0.04) | 0.79 (0.05) | 0.01 (0.14) | 0.15 (0.16) | -0.16 (0.34) | 0.52 (0.11) | -0.23 (0.35) | -0.19 (0.27) |
| UVW | 0.90 (0.03) | 0.57 (0.12) | 0.51 (0.11) | 0.71 (0.08) | 0.68 (0.08) | 0.72 (0.08) | | 0.85 (0.04) | 0.89 (0.03) | -0.13 (0.15) | 0.2 (0.17) | -0.17 (0.36) | 0.47 (0.12) | -0.19 (0.7) | -0.23 (0.19) |
| LVA | 0.83 (0.05) | 0.35 (0.15) | 0.84 (0.06) | 0.84 (0.06) | 0.69 (0.08) | 0.71 (0.08) | 0.77 (0.06) | | 0.98 (0.01) | 0.1 (0.14) | 0.17 (0.16) | -0.15 (0.35) | 0.44 (0.12) | -0.28 (0.66) | -0.16 (0.19) |
| UVA | 0.81 (0.05) | 0.29 (0.16) | 0.73 (0.08) | 0.85 (0.05) | 0.67 (0.08) | 0.59 (0.10) | 0.82 (0.04) | 0.94 (0.02) | | 0.06 (0.14) | 0.17 (0.16) | -0.17 (0.34) | 0.42 (0.12) | -0.25 (1.16) | -0.18 (0.19) |
| FWA | 0.03 (0.15) | | 0.11 (0.15) | 0.05 (0.16) | | -0.07 (0.16) | | 0.03 (0.14) | 0.05 (0.14) | | -0.06 (0.16) | | -0.14 (0.13) | | 0.11 (0.18) |
| LV | 0.3 (0.13) | 0.09 (0.15) | 0.09 (0.13) | 0.33 (0.13) | 0.21 (0.13) | 0.21 (0.14) | 0.18 (0.12) | 0.33 (0.12) | 0.3 (0.12) | -0.08 (0.13) | | -0.7 (0.30) | 0.67 (0.10) | 0.4 (1.04) | -0.99 (0.02) |
| AV | 0.04 (0.22) | | 0.06 (0.22) | -0.09 (0.23) | | 0.19 (0.24) | 0.03 (0.46) | -0.08 (0.20) | -0.18 (0.23) | | -0.51 (0.15) | | -0.27 (0.31) | | 0.74 (0.42) |
| BV | 0.19 (0.13) | 0.24 (0.15) | 0.16 (0.13) | 0.13 (0.14) | 0.05 (0.13) | 0.24 (0.14) | 0.18 (0.12) | 0.17 (0.13) | 0.09 (0.12) | | 0.76 (0.05) | -0.27 (0.17) | | | -0.68 (0.11) |
| MDI | 0.15 (0.13) | -0.04 (0.15) | 0.13 (0.13) | 0.22 (0.13) | 0.11 (0.12) | 0.12 (0.14) | 0.11 (0.11) | 0.18 (0.12) | 0.2 (0.12) | | 0.75 (0.05) | -0.4 (0.17) | 0.64 (0.06) | | -0.56 (0.45) |
| PDA | -0.21 (0.13) | -0.05 (0.15) | -0.08 (0.13) | -0.27 (0.13) | -0.14 (0.13) | -0.17 (0.14) | -0.09 (0.12) | -0.27 (0.12) | -0.23 (0.12) | 0.1 (0.12) | -0.97 (0.01) | 0.54 (0.14) | -0.8 (0.04) | -0.85 (0.03) | |

2.3. Accuracy of EBVs

When comparing the two selection models, the prediction accuracy was always higher with the GBLUP model except for AV and MDI in P1 (Figure 4, see all results in Supplementary Table 2). However, the genomic information provided better prediction accuracy for all traits in P2. In both populations, the greatest difference in prediction accuracy between the two models was for FWA, which ranged from 0.42 to 0.68 for P1 and from 0.38 to 0.66 for P2.

LV, AV and MDI were among traits with lowest accuracy using a GBLUP model in both populations. The smallest gain in accuracy from BLUP to GBLUP model was for L, LV and PDA in P1 with a difference below 0.07 and for W, LVW, TW and LVA in P2 with a difference below 0.10 (Supplementary Table 2).

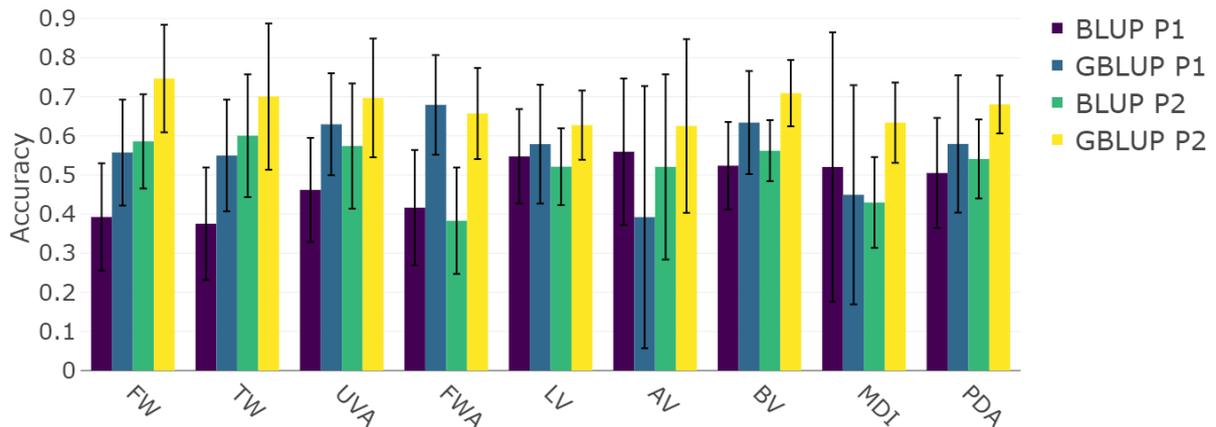


Figure 4 : Prediction accuracy and standard deviations using BLUP or GBLUP in two studied population for growth and colour traits. P1: Population 1, P2: Population 2, FW: Wet Flesh Weight, TW: Total Weight, UVA: Upper Valve Area, FWA: Flesh Weight Adjusted by TW, LV: Mean Upper Valve L* value, AV: Mean Upper Valve a* value, BV: Mean Upper Valve b* value, MDI: Mean Darkness Intensity, PDA: Percent of Dark Area

Discussion

Several recent articles have highlighted the potential of genomic selection in Pacific oyster breeding (Gutierrez et al., 2018, 2020; Kriaridou et al., 2020) and started to demonstrate its feasibility in commercial programs (Delomas et al., 2023). Here, we aimed to further demonstrate the feasibility of GS at the commercial scale in mixed family designs, using two independent populations under selection in France. This was made possible thanks to the development of the bi-species Axiom Affymetrix 57K oyster array (Gutierrez et al., 2017), which allowed us to study genetic structure and diversity in our two populations. The genetic parameter estimations of the commercial traits revealed a potential interest in the application of selective breeding. Additionally, comparing the accuracy of EBVs estimated by the BLUP or GBLUP models provides further evidence for the switch to GS for these two mixed-family selective breeding programs.

1. Genotyping

1.1. Quality

The bi-species Axiom Affymetrix 57K oyster array (Gutierrez et al., 2017) has already been used in other studies. After the filters proposed by the best practice workflow of the AxAS software, Gutierrez et al. (2018) obtained 23 400 informative SNPs on 820 individuals and Vendrami et al. (2019) obtained 21 500 on 232 individuals. Using the same thresholds, approximately 24 000 SNPs would have been obtained for P1 and 27 200 SNPs for P2. However, those filtering thresholds were not sufficient to clearly discriminate genotype clusters and be confident in genotype calls in our datasets. To overcome this issue, we were more stringent on the FLD threshold than recommended by the best practice workflow of AxAS, leading to a much lower final number of SNPs retained than other studies using the same array. The choice of quality over quantity was also motivated by the fact that in many species, including Pacific oyster, reducing the number of markers up to a certain number has little impact on accuracy results. In many studies a number of markers between 1000 and 3000 is sufficient to obtain good prediction accuracy (Delomas et al., 2023; Kriaridou et al., 2020; Robledo et al., 2018; Song and Hu, 2022). These previous results, obtained on different species and using different SNP selection methods, consolidated the choice to keep only very high quality SNPs. In the case of the oyster array, many markers are of poor quality, and stringent filtering of genotyping data is to be recommended.

1.2. Genome covering by selected SNPs

The Pacific oyster genome is a complex one that has benefited from a succession of assemblies since 2012 (Peñalosa et al., 2021; Qi et al., 2021; Wang et al., 2019; Yin et al., 2020). The array used in the

present study was developed based on the first assembly of a first reference genome (Zhang et al., 2012). Various GWAS have been performed with this assembly (Gutierrez et al., 2018, 2020). However, Hedgecock et al. (2015) revealed assembly errors on this reference genome related to several factors such as extremely high levels of genetic polymorphism, non-Mendelian segregation of marker loci in pair crosses, and high incidence of null alleles for genetic markers. A recent assembly of better quality for a new reference genome has been released (Peñaloza et al., 2021). A large proportion of our selected markers mapped well onto this latest reference genome (86% and 85% for P1 and P2 respectively). However, large disparities in the distribution of SNPs across the genome were observed in the marker density maps. This could lead to missing QTLs in some regions but this might be overcome either by using an existing high density array (like the 190K array, Qi et al., 2017) or by developing a new, more optimised one.

1.3. Linkage disequilibrium

Genomic selection makes use of the linkage disequilibrium (LD) between SNPs and QTLs or causal mutations that contribute to the variance of the trait (Goddard and Hayes, 2009). Linkage disequilibrium was previously reported in both wild and selected *C. gigas* populations (Gutierrez et al., 2017; Zhong et al., 2017). Values for r^2 ranged between 0.15 and 0.25 for SNPs within a distance of 0 to 1 kb and between 0.09 and 0.15 within 100 kb for the studied populations, although in one of their populations, the LD level still decreased to 0.05 at 500 kb. The strong decay of LD was also found in both wild and selected populations, with a r^2 below 0.2 at \sim 0.13 kb or at \sim 0.35 kb (Hu et al., 2022). In the other mollusc species common cockle (*Cerastoderma edule*) and silver lip oyster (*Pinctada maxima*), the maximum r^2 reported were 0.05 and 0.082, respectively, even for very short distances (Jones et al., 2013; Vera et al., 2022). Those estimated LD values were low overall compared with fish species such as salmonids, cyprinids or perciforms (D'Ambrosio et al., 2019; Hong Xia et al., 2015; Xu et al., 2014). In our study, the LD estimates were calculated on two large commercial-scale populations, which contrasts with the work of Gutierrez et al. (2017), who used a small sample of individuals. The levels of LD we report in P1 and P2 were calculated with high variance of family sizes, potentially leading to an over estimation of LD in our populations. However, our results confirm the low level of LD in *C. gigas* populations as being in the range obtained in previous studies on molluscs. Low LD results can be explained by several factors, such as the relatively high effective population sizes reported in our study and the limited number of generations for which these populations had been bred in isolation.

2. Diversity and structure of breeding populations

Implementation of a genomic selection program implies carefully considering several factors. One of these is the mating design. Comparing different mating designs (factorial, partial factorial and nested) by simulation, it was demonstrated that a factorial mating system showed the lowest inbreeding rate and the highest selection response (Dupont-Nivet et al., 2006; D'Agaro et al., 2007; Sonesson and Ødegård, 2016). Mass spawning mating could be a way to make a full factorial design, but high variance in reproductive success is to be expected (Boudry et al., 2002; Smits et al., 2020). However, full-factorials with individual, couple-by-couple fertilisations can be difficult to implement. So, partial factorial seemed to be a good compromise to achieve high genetic responses while preserving genetic variability (Dupont-Nivet et al., 2006). The Pacific oyster has a well-controlled reproductive cycle, with the possibility of generating synchronised spawning of males and females, making this type of mating design feasible. This meant that the partial factorial mating design could be carried out with our populations, as represented in Supplementary Figures 1 and 2 (showing results obtained after parentage assignment).

Another factor to consider is how to rear all the families. On the one hand, mixing all the families together is the least demanding way to do this in terms of infrastructure and workload. It also ensures a common environment for comparing candidates for selection. On the other hand, there is a potential

for unequal contribution of parents (Boudry et al., 2002) and this approach raises the risk of inbreeding in later generations (García-Ballesteros et al., 2021). In our data, we observe some variance in reproductive success, but this has little impact on the N_{ev} of the two populations. Our estimates are higher than the N_e estimated by Zhong et al. (2017): between 48 and 58 for populations under selection, and Smits et al. (2020): 39 or 87 considering variance in reproductive success or not, respectively. The N_{et} estimated based on linkage disequilibrium gives similar results to N_{ev} when considering a recombination rate of 1.8, but differs a little from it when increasing the recombination rate. However, all the values of N_e are consistent and a limited increase in inbreeding for the next generations is expected (< 1%). Therefore, mixed-family breeding programs should allow for an inbreeding increase rate lower than suggested by the FAO for fish breeders in order to assure long term management of genetic diversity (Fisheries and Aquaculture Management Division, 2008).

Finally, another point requiring vigilance is to keep genetic links between families and factorials. Factorial designs generate a very high number of families, which can result in a very low number of individuals phenotyped and genotyped in each family (3.5–4) (Haffray et al., 2018). Small and variable family sizes could be considered unfavourable for the accuracy of the estimated breeding values (EBVs). Nevertheless, an intermediate to high accuracy of EBVs can be estimated even with a low number of full-sibs per family (Haffray et al., 2018), thanks to the very high number of genetic connections within each factorial (70 to 80 families in our two studied populations) and between all factorials when previous generations are known. The relative genomic homogeneity of P1 and P2 populations is also a good indicator that no high variance of reproductive success appeared in recent past generations. Mixed-family designs with egg equalisation thus appear to be a relevant way to limit costs without sacrificing control of parental representation. These two populations from mixed families and *a posteriori* pedigree were, therefore, a suitable manner to test the feasibility of genomic selection.

3. Estimation of genetic parameters

3.1. Heritability

Heritability estimates depend on parameters of the studied population such as genetic diversity, life stage and environmental conditions (Gjedrem and Thodesen, 2005). As a result, they may vary between populations and/or rearing environments. Hollenbeck and Johnston (2018), reviewing selective breeding in molluscs, reported low to moderate heritability for most traits of commercial interest. On diverse molluscan species, like bay scallop, blue mussel or manila clam, they reported a range of heritability for total weight between 0.22 and 0.39. For morphometric traits (H, W, L), heritability estimates ranged between 0.11 and 0.73 (Smits et al., 2020; Vu et al., 2021; Wang et al., 2014; Zheng et al., 2004). Focusing on *C. gigas*, heritability estimates were reported in the range of 0.07 to 0.58 for total weight and 0.1 to 0.49 for shell growth traits (Dégremont et al., 2007; Gomes et al., 2018; Gutierrez et al., 2018; Xu et al., 2017). Our results are in accordance with these previous studies, with a low estimated heritability for Total Weight between 0.19 and 0.23 and low to moderate heritability values for shell growth traits (H, W, L) ranging from 0.15 to 0.31 in our two populations. For Wet Flesh Weight, we obtained heritability estimates between 0.22 and 0.26. This is lower than the 0.35 reported by Gutierrez et al. (2018) or the 0.53 reported in the pearl oyster by Wang et al. (2010). These results indicate genetic variation in growth traits, providing a significant opportunity to improve these phenotypes through genomic selection.

A major difference between all these studies is the standard error (SE) associated with the heritability estimates. The low SE values obtained in our study (between 0.02 and 0.08) are slightly lower than those of Wang et al. (2022), with an SE of about 0.11 using genomics on 764 individuals from random group matings of *Hyriopsis cumingii*, and in agreement with those obtained by Gutierrez et al. (2018),

with an SE of 0.06. Conversely, we should not ignore the numbers of individuals and families (Houston et al., 2020). In several studies, heritability values had high standard errors (0.09–0.25) (Kong et al., 2015; Smits et al., 2020; Xu et al., 2017), probably due to a small number of families (< 50 full-sib) and/or offspring (≤ 400). All these results show the possibility of accurately estimating heritability with a mixed-family breeding program, provided that there is a sufficient number of genotyped individuals.

It has been well demonstrated that differences in rearing methods (suspended vs bag) and practices (immersed vs on shore) may have a significant impact on the expression of additive genetic components of oyster growth (Sheridan, 1997). Oyster production in mesh bags with twice daily tide emersion, as used along the European Atlantic coast, may increase environmental variance, impacting the estimation of the additive genetic variance. As an example, Melo et al. (2018) found moderate to high GxE correlations between marine and brackish environments for growth and survival traits, indicating that creating independent breeding programs, instead of a single breeding program for generalist families, would be more effective at improving those traits in different geographical locations. A GxE study on the impact of novel rearing conditions (lantern nets, ropes and rotative systems, etc.) could help find the best conditions for evaluating additive genetic components and EBV for oyster growth when compared with standard French rearing conditions on the Atlantic coast.

Colour is an often studied trait in molluscs species because a large phenotypic variability is available and market opportunities may exist for different phenotypes (Williams, 2017). Many means are available to obtain colour phenotype data; for example, to establish categories with threshold parameters or to identify individuals with higher shell contrast. Other methods of acquiring colour data on molluscs were used in other studies, such as Raman spectroscopy (Stenger et al., 2021) or diffuse reflectance UV-Vis spectra (Yan et al., 2021). The main advantage of our method is that it is fast, inexpensive, close to the human visual perception and allows the measurement of other traits at the same time. It is often reported that shell colour in molluscs is associated with QTLs (see for review Saenko and Schilthuizen, 2021; Williams, 2017). Here, we considered colour as a quantitative trait under polygenic control. For shell pigmentation equivalent to L^* (Xu et al., 2017), a large range of estimated heritabilities have been reported, ranging between 0.59 (Evans et al., 2009) and 0.156 (± 0.078) (Xing et al., 2018). Strong realised heritabilities (between 0.52 and 0.69) for the parameters L^* , a^* and b^* were described in a black shell lineage (Xu et al., 2017). In our study, the same measurement procedure was used for both populations, and we observed differences between them, mainly for the traits related to the parameters L^* (luminance) and b^* (blue-yellow axis). The heritability estimates for these traits in the P1 population were lower than 0.35, with a very low estimate for the Mean Darkness Intensity (< 0.1). In P2, however, the values range from 0.44 to 0.65, which is in accordance with previous studies. These differences may be due to the difference in phenotypic variance of these colour parameters between the two populations, with P1 being lighter and more uniform than P2. Studying lineages of different shell background colours may explain the difference in heritability of the a^* parameter obtained in our study (0.1) compared with Xu et al. in 2017 (0.65). In addition, De et al. (2019) showed that different families performed differently across two different rearing sites revealing the genotype by environment ($G \times E$) interactions on growth and shell colour traits. In our study, site effects were confounded with our populations, which could explain the observed differences in heritabilities. In the future, in order to better identify the selection objectives for colour, a classification should be established according to the perception of the consumer's eye. Nevertheless, our results of low to high shell colour heritabilities confirm that oyster shell colour is under genetic control and could be improved through a mixed-family selective breeding program.

3.2. Genetic correlation estimates

Genetic correlation is notably used to evaluate whether the genetic basis of a desired trait could be antagonistic with another trait. In the literature, genetic correlation estimates between growth traits were reported between 0.55 and 0.95 (Gomes et al., 2018; Alejandro P. Gutierrez et al., 2018; Kong et al., 2015). The same characteristics have been found in other oyster species such as *C. virginica*, with moderate to high positive genetic correlations between total weight and other morphometric traits (0.58–0.90) (Vu et al., 2021). Most growth traits here have moderate to strong genetic correlations (0.38–0.98 except for the low genetic correlation between height and width in P2: 0.16) in both populations, which is consistent with previous studies. Length traits, mainly width and height, are very likely prone to measurement errors. Considering that oysters have a great morphological plasticity, it is difficult to get an accurate, repeatable measure of these traits, which may explain their lower genetic correlation in our two populations. The high genetic correlations between some traits could indicate that common genes are involved in the expression of several traits. In a selection scheme, evaluating and selecting on one of these traits would simultaneously improve all the others. The Flesh Weight Adjusted trait can also be a breeding objective. If the flesh weight is corrected by the total weight, then this trait can be selected independently of the other traits.

Conflicting results about correlation of shell colour parameters are found in the literature, with genetic correlations ranging from -0.11 to 0.98 depending on genetic background – especially when comparing different lines selected for different colours – (Wan et al., 2017; Xu et al., 2017). In our study, the genetic correlations of colour traits vary, ranging from -0.27 to 0.76 considering the three main colour parameters (L^* , a^* , b^*). It is noteworthy that between the colour parameters a^* and b^* in the two populations we find a medium negative correlation of -0.27. It is important to know the relationships of colour and growth traits well in order to choose breeding strategies that best suit the improvement objectives. To date, these relationships seem very dependent on the lines studied. These correlations vary depending on studies, sometimes showing traits to be uncorrelated (Han and Li, 2021; Wan et al., 2017) and sometimes highly correlated (Xu et al., 2017). In our two populations, it seems that the colour traits are either uncorrelated or only slightly genetically correlated with growth traits, except for the P1 where the colour parameter b^* is moderately correlated with the total weight, length and weight of the valves (≈ 0.5). In our case, given the weak genetic correlations, different selection plans aiming to improve colour or growth traits can be developed without negative interaction between these traits.

4. Genomic prediction accuracy

Accurate estimations of breeding values are essential for developing a breeding program and predicting the responses of traits of interest to selection. An overview made of the application of genomic prediction strategies to a variety of cultured aquatic species reported a 22% improvement in prediction accuracy for growth-related traits over pedigree-based strategies (Houston et al., 2020), indicating that substantial improvements in the rate of genetic gain can be achieved through genomics-based selection techniques. In 2018, Gutierrez et al. published results on three traits going in the same direction, with expected improvements of $\sim 25\%$ for wet weight and shell length to $\sim 30\%$ for shell height. On *C. virginica*, a 15% increase in shell length was found by Vu et al. (2021). Regardless of the population, our results comparing the accuracy of EBV from genomic models with the accuracy from pedigree models show that genomic models are better for all the traits studied, with only the exceptions of the Mean Darkness Intensity and the Mean Upper Valve a^* Value in P1, where the heritability was close to zero. The gain in accuracy for growth traits is between 15 % and 60 % in P1 and between 10% and 30 % in P2. For colour traits with consistent heritability (L^* , b^*), the gain in accuracy with genomic information is between 6% and 26% and even 48% for MDI in P2. This is the first time to our knowledge that the accuracy of selection for shell colour parameters has been

evaluated for *C. gigas*. These results are in agreement with previous studies in aquaculture showing improved accuracy in predicting breeding values from genomic rather than pedigree-based models in Atlantic salmon (Ødegård et al., 2014; Robledo et al., 2018; Tsai et al., 2015; Yoshida et al., 2018), sea bass (Palaïokostas *et al.*, 2016, 2018), rainbow trout (D'Ambrosio et al., 2020; Vallejo et al., 2017) and whiteleg shrimp (Wang et al., 2017). Our results confirm the relevance of using genomic tools in the breeding programs of the Pacific oyster.

Conclusion

Our results confirm the possibility of improving growth and colour traits in commercial populations of Pacific oyster and the relevance of genomic selection and mixed-family designs for doing this. The two breeding programs evaluated both manage to show substantial genetic variation for genetic improvement and good genetic diversity, as shown by effective size estimates. However, better genomic tools need to be developed because the number of SNPs of good quality was low and provided poor genome coverage and density. Finally, interactions between genotype and environment, including rearing practices, should be evaluated by further studies to optimise breeding programs for hatcheries that provide seed able to grow in highly contrasted environments.

Acknowledgements

This work was supported by the European Maritime and Fisheries Fund (EMFF) and FranceAgriMer as part of 'Quality Huitre' under grant number PFEA470018FA1000011. We acknowledge the staff of the INRAE platform GENTYANE for their genotyping expertise and those of the Pôle de Calcul et de Données Marines (PCDM) for providing DATARMOR data access and computational resources. We thank Helen McCombie from Brest University translation bureau for her professional English editing services. Finally, we thank Frédéric Chenier and Stéphane Angeri from Vendée Naissain, and Laura Gribouval and Bertrand du Mesnildot from SATMAR, for their participation in the project.

References

- Allal, F., Nguyen, N.H., 2022. Genomic Selection in Aquaculture Species. In: Ahmadi, N., Bartholomé, J. (Eds.), *Genomic Prediction of Complex Traits, Methods in Molecular Biology*. Springer US, New York, NY, pp. 469–491. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2205-6_17
- Axiom Genotyping Solution Data Analysis Guide [WWW Document], 2011. URL https://www.affymetrix.com/support/downloads/manuals/axiom_genotyping_solution_analysis_guide.pdf
- Boudry, P., Allal, F., Aslam, M.L., Bargelloni, L., Bean, T.P., Brard-Fudulea, S., Briec, M.S.O., Calboli, F.C.F., Gilbey, J., Haffray, P., Lamy, J.-B., Morvezen, R., Purcell, C., Prodöhl, P.A., Vandeputte, M., Waldbieser, G.C., Sonesson, A.K., Houston, R.D., 2021. Current status and potential of genomic selection to improve selective breeding in the main aquaculture species of International Council for the Exploration of the Sea (ICES) member countries. *Aquac. Rep.* 20, 100700. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100700>
- Boudry, P., Collet, B., Cornette, F., Hervouet, V., Bonhomme, F., 2002. High variance in reproductive success of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg) revealed by microsatellite-based parentage analysis of multifactorial crosses. *Aquaculture*, 204(3-4), 283-296. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00841-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00841-9)
- Chang, C.C., Chow, C.C., Tellier, L.C., Vattikuti, S., Purcell, S.M., Lee, J.J., 2015. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience* 4, s13742-015-0047–8. <https://doi.org/10.1186/s13742-015-0047-8>
- Chevassus, B., 1989. Constitution of aquacultural stocks: Genetic aspects. Presented at the Advances in Tropical Aquaculture, Workshop at Tahiti, French Polynesia, 20 Feb - 4 Mar 1989. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00000/1442/>
- Correa, K., Bangera, R., Figueroa, R., Lhorente, J.P., Yáñez, J.M., 2017. The use of genomic information increases the accuracy of breeding value predictions for sea louse (*Caligus rogercresseyi*) resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Genet. Sel. Evol.* 49, 15. <https://doi.org/10.1186/s12711-017-0291-8>
- D'Agaro, E., Woolliams, J.A., Haley, C.S., Lanari, D., 2007. Optimizing mating schemes in fish breeding. *Ital. J. Anim. Sci.* 6, 795–796. <https://doi.org/10.4081/ijas.2007.1s.795>
- D'Ambrosio, J., Morvezen, R., Brard-Fudulea, S., Bestin, A., Acin Perez, A., Guéméné, D., Poncet, C., Haffray, P., Dupont-Nivet, M., Phocas, F., 2020. Genetic architecture and genomic selection of female reproduction traits in rainbow trout. *BMC Genom.* 21, 558. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06955-7>
- D'Ambrosio, J., Phocas, F., Haffray, P., Bestin, A., Brard-Fudulea, S., Poncet, C., Quillet, E., Dechamp, N., Fraslin, C., Charles, M., Dupont-Nivet, M., 2019. Genome-wide estimates of genetic diversity, inbreeding and effective size of experimental and commercial rainbow trout lines undergoing selective breeding. *Genet. Sel. Evol.* 51, 26. <https://doi.org/10.1186/s12711-019-0468-4>
- de Melo, C.M.R., Durland, E., Langdon, C., 2016. Improvements in desirable traits of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, as a result of five generations of selection on the West Coast, USA. *Aquaculture* 460, 105–115. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.04.017>
- De, X., Qi, L., JingXiao, Z., 2019. Genotype by environment (G × E) interaction for growth and shell color traits in the white-shell strain of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *J. Fish. China.* 43, 474–482.
- Dégremont, L., Ernande, B., Bédier, E., Boudry, P., 2007. Summer mortality of hatchery-produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*). I. Estimation of genetic parameters for survival and growth. *Aquaculture* 262, 41–53. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.10.025>

- Dégremont, L., Garcia, C., Allen, S.K., 2015. Genetic improvement for disease resistance in oysters: A review. *J. Invertebr. Pathol.* 131, 226–241. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.05.010>
- Delomas, T.A., Hollenbeck, C.M., Matt, J.L., Thompson, N.F., 2023. Evaluating cost-effective genotyping strategies for genomic selection in oysters. *Aquaculture* 562, 738844. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738844>
- Dray, S., Dufour, A.-B., 2007. The ade4 Package: Implementing the duality diagram for ecologists. *J. Stat. Softw.* 22, 1–20. <https://doi.org/10.18637/jss.v022.i04>
- Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., Haffray, P., Chevassus, B., 2006. Effect of different mating designs on inbreeding, genetic variance and response to selection when applying individual selection in fish breeding programs. *Aquaculture* 252, 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.07.005>
- Enez, F., Lorgeoux, B., H, M., Bugeon, J., Vandeputte, M., Gagnaire, P.-A., Bierne, N., Blanc, P.P., Haffray, P., 2018. Genetic parameters for growth and colour traits in Pacific blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* in a mixed family design with SNP parentage assignment in New-Caledonia. In 11. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. <https://hal.inrae.fr/hal-03156790>
- Evans, S., Camara, M.D., Langdon, C.J., 2009. Heritability of shell pigmentation in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 286, 211–216. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.09.022>
- Evans, S., Langdon, C., 2006. Direct and indirect responses to selection on individual body weight in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 261, 546–555. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.07.037>
- Falconer, D.S., Mackay, T.F.C., 1996. *Introduction to Quantitative Genetics* (Pearson, ed. 4).
- FAO, 2022. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022: Towards Blue Transformation*, The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). FAO, Rome, Italy. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Fisheries and Aquaculture Management Division, 2008. *Aquaculture Development 3. Genetic Resource Management*, FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries. FAO, Rome, Italy.
- Gagnaire, P.-A., Lamy, J.-B., Cornette, F., Heurtebise, S., Dégremont, L., Flahauw, E., Boudry, P., Bierne, N., Lapègue, S., 2018. Analysis of genome-wide differentiation between native and introduced populations of the cupped oysters *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata*. *Genome Biol. Evol.* 10, 2518–2534. <https://doi.org/10.1093/gbe/evy194>
- García-Ballesteros, S., Fernández, J., Toro, M.Á., Villanueva, B., 2021. Benefits of genomic evaluation in aquaculture breeding programs with separate rearing of families. *Aquaculture* 543, 737004. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737004>
- Gilmour, A.R., Thompson, R., Cullis, B.R., 1995. Average information REML: An efficient algorithm for variance parameter estimation in linear mixed models. *Biometrics* 51, 1440–1450. <https://doi.org/10.2307/2533274>
- Gjedrem, T., Thodesen, J., 2005. Selection, in: Gjedrem, T. (Ed.), *Selection and breeding programs in aquaculture*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 89–111. https://doi.org/10.1007/1-4020-3342-7_7
- Gjerde, B., Gjøen, H.M., Villanueva, B., 1996. Optimum designs for fish breeding programmes with constrained inbreeding Mass selection for a normally distributed trait. *Livest. Prod. Sci.* 47, 59–72. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(96\)01000-7](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(96)01000-7)
- Goddard, M.E., Hayes, B.J., 2009. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nat. Rev. Genet.* 10, 381–391. <https://doi.org/10.1038/nrg2575>

- Gomes, R.B., Dybas, P.R., Silva, F.C. da, Sühnel, S., Albuquerque, M.C.P. de, Melo, C.M.R. de, 2018. Estimates of genetic parameters for growth and survival in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). Bol. Inst. Pesca 44. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2018.337>
- Griot, R., Allal, F., Brard-Fudulea, S., Morvezen, R., Haffray, P., Phocas, F., Vandeputte, M., 2020. APIS: An auto-adaptive parentage inference software that tolerates missing parents. Mol. Ecol. Resour. 20, 579–590. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13103>
- Gutierrez, Alejandro P, Bean, T.P., Hooper, C., Stenton, C.A., Sanders, M.B., Paley, R.K., Rastas, P., Bryrom, M., Matika, O., Houston, R.D., 2018. A Genome-wide association study for host resistance to *Ostreid Herpesvirus* in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). G3: Genes Genomes Genet. 8, 1273–1280. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200113>
- Gutierrez, Alejandro P., Matika, O., Bean, T.P., Houston, R.D., 2018. Genomic selection for growth traits in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): Potential of low-density marker panels for breeding value prediction. Front. Genet. 9, 391. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00391>
- Gutierrez, A.P., Symonds, J., King, N., Steiner, K., Bean, T.P., Houston, R.D., 2020. Potential of genomic selection for improvement of resistance to ostreid herpesvirus in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). Anim. Genet. 51, 249–257. <https://doi.org/10.1111/age.12909>
- Gutierrez, A.P., Turner, F., Gharbi, K., Talbot, R., Lowe, N.R., Peñaloza, C., McCullough, M., Prodöhl, P.A., Bean, T.P., Houston, R.D., 2017. Development of a medium density combined-species SNP array for Pacific and European oysters (*Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*). G3: Genes Genomes Genet. 7, 2209–2218. <https://doi.org/10.1534/g3.117.041780>
- Haffray, P., Enez, F., Bugeon, J., Chapuis, H., Dupont-Nivet, M., Chatain, B., Vandeputte, M., 2018. Accuracy of BLUP breeding values in a factorial mating design with mixed families and marker-based parentage assignment in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 490, 350–354. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.003>
- Han, Z., Li, Q., 2021. Relationship between shell color and growth and survival traits in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. J. Ocean Univ. China. 20, 985–991. <https://doi.org/10.1007/s11802-021-4676-5>
- Hedgecock, D., Shin, G., Gracey, A.Y., Den Berg, D.V., Samanta, M.P., 2015. Second-generation linkage maps for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* reveal errors in assembly of genome scaffolds. G3: Genes Genomes Genet. 5, 2007–2019. <https://doi.org/10.1534/g3.115.019570>
- Helm, M.M., Bourne, N., Lovatelli, A., 2004. Hatchery culture of bivalves: A practical manual. FAO Fisheries Technical Paper, FAO.
- Hollenbeck, C.M., Johnston, I.A., 2018. Genomic tools and selective breeding in molluscs. Front. Genet. 9. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00253>
- Hong Xia, J., Bai, Z., Meng, Z., Zhang, Y., Wang, L., Liu, F., Jing, W., Yi Wan, Z., Li, J., Lin, H., Hua Yue, G., 2015. Signatures of selection in tilapia revealed by whole genome resequencing. Sci. Rep. 5, 14168. <https://doi.org/10.1038/srep14168>
- Houston, R.D., Bean, T.P., Macqueen, D.J., Gundappa, M.K., Jin, Y.H., Jenkins, T.L., Selly, S.L.C., Martin, S.A.M., Stevens, J.R., Santos, E.M., Davie, A., Robledo, D., 2020. Harnessing genomics to fast-track genetic improvement in aquaculture. Nat. Rev. Genet. 21, 389–409. <https://doi.org/10.1038/s41576-020-0227-y>
- Hu, B., Tian, Y., Li, Q., Liu, S., 2022. Genomic signatures of artificial selection in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Evol. Appl. 15, 618–630. <https://doi.org/10.1111/eva.13286>
- Hu, Y., Li, Q., Xu, C., Liu, S., Kong, L., Yu, H., 2022. Genetic variability of mass-selected and wild populations of Iwagaki oyster (*Crassostrea nippona*) revealed by microsatellites and mitochondrial COI sequences. Aquaculture 738737. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738737>

- Jones, D., Toole, P., Khatkar, M., Raadsma, H., Jerry, D., Zenger, K., 2017. Developing a genomic selection breeding program for complex pearl colour traits within the silver-lipped pearl oyster. *Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet.* 22, 537–540.
<http://www.aaabg.org/aaabghome/AAABG22papers/125Jones22537.pdf>.
- Jones, D.B., Jerry, D.R., Khatkar, M.S., Raadsma, H.W., Zenger, K.R., 2013. A high-density SNP genetic linkage map for the silver-lipped pearl oyster, *Pinctada maxima*: a valuable resource for gene localisation and marker-assisted selection. *BMC Genom.* 14, 810. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-810>
- Jourdan, A., Bugeon, J., Lamy, J.-B., Enez, F., Dégremont, L., Boudry, P., Haffray, P., Chesnier, F., Vetois, E., Morvezen, R., 2021. An image analysis pipeline for molluscs shells phenotyping: Development and validation on the pacific oyster *Crassostrea gigas*. Presented at the Aquaculture Europe 2021.
- Kong, N., Li, Q., Yu, H., Kong, L.-F., 2015. Heritability estimates for growth-related traits in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) using a molecular pedigree. *Aquac. Res.* 46, 499–508.
<https://doi.org/10.1111/are.12205>
- Kriaridou, C., Tsairidou, S., Houston, R.D., Robledo, D., 2020. Genomic prediction using low density marker panels in aquaculture: Performance across species, traits, and genotyping platforms. *Front. Genet.* 11. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00124>
- Langdon, C., Evans, F., Jacobson, D., Blouin, M., 2003. Yields of cultured Pacific oysters *Crassostrea gigas* Thunberg improved after one generation of selection. *Aquaculture* 220, 227–244.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00621-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00621-X)
- Lapègue, S., Harrang, E., Heurtebise, S., Flahauw, E., Donnadiou, C., Gayral, P., Ballenghien, M., Genestout, L., Barbotte, L., Mahla, R., Haffray, P., Klopp, C., 2014. Development of SNP-genotyping arrays in two shellfish species. *Mol. Ecol. Resour.* 14, 820–830.
<https://doi.org/10.1111/1755-0998.12230>
- Launey, S., Barre, M., Gerard, A., Naciri-Graven, Y., 2001. Population bottleneck and effective size in *Bonamia ostreae*-resistant populations of *Ostrea edulis* as inferred by microsatellite markers. *Genet. Res.* 78, 259–270. <https://doi.org/10.1017/S0016672301005353>
- Legarra, A., Robert-Granié, C., Manfredi, E., Elsen, J.-M., 2008. Performance of genomic selection in mice. *Genet.* 180, 611–618. <https://doi.org/10.1534/genetics.108.088575>
- Li, Q., Wang, Q., Liu, S., Kong, L., 2011. Selection response and realized heritability for growth in three stocks of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Fish. Sci.* 77, 643–648.
<https://doi.org/10.1007/s12562-011-0369-0>
- Matson, S.E., 2011. Development, evaluation and application of a mixed-family selective breeding method for the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). Dissertation work for the Oregon state university for the doctor of philosophy in animal science [WWW Document]. URL <https://seagrant.oregonstate.edu/sgpubs/development-evaluation-and-application-mixed-family-selective-breeding-method-pacific-oyster>.
- McCarty, A.J., Allen, S.K., Jr., Plough, L.V., 2022. Genome-wide analysis of acute low salinity tolerance in the eastern oyster *Crassostrea virginica* and potential of genomic selection for trait improvement. *G3: Genes Genomes Genet.* 12, jkab368.
<https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab368>
- Melo, C.M.R.D., Morvezen, R., Durland, E., Langdon, C., 2018. Genetic by Environment Interactions for Harvest Traits of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) across Different Environments on the West Coast, USA. *J. Shellfish Res.* 37, 49–61.
<https://doi.org/10.2983/035.037.0104>

- Mendoza, F., Dejmek, P., Aguilera, J.M., 2006. Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis. *Postharvest Biol. Technol.* 41, 285–295.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.04.004>
- Meuwissen, T., Hayes, B., Goddard, M., 2016. Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding. *Anim. Front.* 6, 6–14. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0002>
- Misztal, I., Tsuruta, S., Strabel, T., Auvray, B., Druet, T., Lee, D.H., 2002. BLUPF90 and related programs (BGF90). *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, August, 2002. Session 28* 1–2.
- Naciri-Graven, Y., Martin, A.-G., Baud, J.-P., Renault, T., Gérard, A., 1998. Selecting the flat oyster *Ostrea edulis* (L.) for survival when infected with the parasite *Bonamia ostreae*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 224, 91–107. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(97\)00171-8](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(97)00171-8)
- Nascimento-Schulze, J.C., Bean, T.P., Houston, R.D., Santos, E.M., Sanders, M.B., Lewis, C., Ellis, R.P., 2021. Optimizing hatchery practices for genetic improvement of marine bivalves. *Rev. Aquac.* 13, 2289–2304. <https://doi.org/10.1111/raq.12568>
- Nell, J.A., Smith, I.R., McPhee, C.C., 2000. The Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould 1850) breeding programme: progress and goals. *Aquac. Res.* 31, 45–49.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00387.x>
- Ødegård, J., Moen, T., Santi, N., Korsvoll, S.A., Kjøglum, S., Meuwissen, T.H.E., 2014. Genomic prediction in an admixed population of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Front. Genet.* 5.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00402>
- Penaloza, C., Barria, A., Papadopoulou, A., Hooper, C., Preston, J., Green, M., Helmer, L., Hammerson, J.K., Schulze, J.N., Minardi, D., Gundappa, M.K., Macqueen, D., Hamilton, J., Houston, R.D., Bean, T.P., 2022. Genome-wide association and genomic prediction of growth traits in the European flat oyster (*Ostrea edulis*) (preprint). *Genet.*
<https://doi.org/10.1101/2022.06.10.495672>
- Peñaloza, C., Gutierrez, A.P., Eöry, L., Wang, S., Guo, X., Archibald, A.L., Bean, T.P., Houston, R.D., 2021. A chromosome-level genome assembly for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *GigaScience* 10, giab020. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab020>
- Qi, H., Li, L., Zhang, G., 2021. Construction of a chromosome-level genome and variation map for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Mol. Ecol. Resour.* 21, 1670–1685.
<https://doi.org/10.1111/1755-0998.13368>
- Qi, H., Song, K., Li, C., Wang, W., Li, B., Li, L., Zhang, G., 2017. Construction and evaluation of a high-density SNP array for the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Plos One* 12, e0174007.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174007>
- R Core Team, 2020. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Robert, R., Gérard, A., 1999. Bivalve hatchery technology: The current situation for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the scallop *Pecten maximus* in France. *Aquat. Living Resour.* 12, 121–130.
[https://doi.org/10.1016/S0990-7440\(99\)80021-7](https://doi.org/10.1016/S0990-7440(99)80021-7)
- Robertson, A.R., 1977. The CIE 1976 Color-Difference Formulae. *Color Res. Appl.* 2, 7–11.
<https://doi.org/10.1002/j.1520-6378.1977.tb00104.x>
- Robledo, D., Matika, O., Hamilton, A., Houston, R.D., 2018. Genome-wide association and genomic selection for resistance to amoebic gill disease in Atlantic salmon. *G3: Genes Genomes Genet.* 8, 1195–1203. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200075>
- Saenko, S.V., Schilthuizen, M., 2021. Evo-devo of shell colour in gastropods and bivalves. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 69, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2020.11.009>
- Sheridan, A.K., 1997. Genetic improvement of oyster production—a critique. *Aquaculture* 153, 165–179. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00024-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00024-0)

- Smits, M., Enez, F., Ferraresso, S., Dalla Rovere, G., Vetois, E., Auvray, J.-F., Genestout, L., Mahla, R., Arcangeli, G., Paillard, C., Haffray, P., Bargelloni, L., 2020. Potential for genetic improvement of resistance to *Perkinsus olseni* in the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, using DNA parentage assignment and mass spawning. *Front. Vet. Sci.* 7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.579840>
- Sonesson, A.K., Ødegård, J., 2016. Mating structures for genomic selection breeding programs in aquaculture. *Genet. Sel. Evol.* 48, 46. <https://doi.org/10.1186/s12711-016-0224-y>
- Song, H., Dong, T., Yan, X., Wang, W., Tian, Z., Sun, A., Dong, Y., Zhu, H., Hu, H., 2023. Genomic selection and its research progress in aquaculture breeding. *Rev. Aquac.* 15, 274–291. <https://doi.org/10.1111/raq.12716>
- Song, H., Hu, H., 2022. Strategies to improve the accuracy and reduce costs of genomic prediction in aquaculture species. *Evol. Appl.* 15, 578–590. <https://doi.org/10.1111/eva.13262>
- Stenger, P.-L., Ky, C.-L., Reisser, C., Duboisset, J., Dicko, H., Durand, P., Quintric, L., Planes, S., Vidal-Dupiol, J., 2021. Molecular pathways and pigments underlying the colors of the pearl oyster *Pinctada margaritifera* var. *cumingii* (Linnaeus 1758). *Genes* 12, 421. <https://doi.org/10.3390/genes12030421>
- Tsai, H.-Y., Hamilton, A., Tinch, A.E., Guy, D.R., Bron, J.E., Taggart, J.B., Gharbi, K., Stear, M., Matika, O., Pong-Wong, R., Bishop, S.C., Houston, R.D., 2016. Genomic prediction of host resistance to sea lice in farmed Atlantic salmon populations. *Genet. Sel. Evol.* 48, 47. <https://doi.org/10.1186/s12711-016-0226-9>
- Tsai, H.-Y., Hamilton, A., Tinch, A.E., Guy, D.R., Gharbi, K., Stear, M.J., Matika, O., Bishop, S.C., Houston, R.D., 2015. Genome wide association and genomic prediction for growth traits in juvenile farmed Atlantic salmon using a high density SNP array. *BMC Genom.* 16, 969. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2117-9>
- Vallejo, R.L., Leeds, T.D., Gao, G., Parsons, J.E., Martin, K.E., Evenhuis, J.P., Fragomeni, B.O., Wiens, G.D., Palti, Y., 2017. Genomic selection models double the accuracy of predicted breeding values for bacterial cold water disease resistance compared to a traditional pedigree-based model in rainbow trout aquaculture. *Genet. Sel. Evol.* 49, 17. <https://doi.org/10.1186/s12711-017-0293-6>
- Vandeputte, M., Haffray, P., 2014. Parentage assignment with genomic markers: a major advance for understanding and exploiting genetic variation of quantitative traits in farmed aquatic animals. *Front. Genet.* 5. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00432>
- VanRaden, P.M., 2008. Efficient methods to compute genomic predictions. *J. Dairy Sci.* 91, 4414–4423. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0980>
- Vendrami, D.L.J., Houston, R.D., Gharbi, K., Telesca, L., Gutierrez, A.P., Gurney-Smith, H., Hasegawa, N., Boudry, P., Hoffman, J.I., 2019. Detailed insights into pan-European population structure and inbreeding in wild and hatchery Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) revealed by genome-wide SNP data. *Evol. Appl.* 12, 519–534. <https://doi.org/10.1111/eva.12736>
- Vera, M., Maroso, F., Wilmes, S.B., Hermida, M., Blanco, A., Fernández, C., Groves, E., Malham, S.K., Bouza, C., Consortium, T.C., Robins, P.E., Martínez, P., 2022. Genomic survey of edible cockle (*Cerastoderma edule*) in the Northeast Atlantic: A baseline for sustainable management of its wild resources. *Evol. Appl.* 15, 262–285. <https://doi.org/10.1111/eva.13340>
- Vu, S.V., Gondro, C., Nguyen, N.T.H., Gilmour, A.R., Tearle, R., Knibb, W., Dove, M., Vu, I.V., Khuong, L.D., O'Connor, W., 2021. Prediction accuracies of genomic selection for nine commercially important traits in the Portuguese oyster (*Crassostrea angulata*) Using DArT-Seq Technology. *Genes* 12, 210. <https://doi.org/10.3390/genes12020210>
- Wan, S., Li, Q., Liu, T., Yu, H., Kong, L., 2017. Heritability estimates for shell color-related traits in the golden shell strain of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) using a molecular pedigree. *Aquaculture* 476, 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.012>

- Wan, S., Li, Q., Yu, H., Liu, S., Kong, L., 2020. Estimating heritability for meat composition traits in the golden shell strain of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 516, 734532. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734532>
- Wang, H., Du, X., Lü, W., Liu, Z., 2010. Estimating the heritability for growth-related traits in the pearl oyster, *Pinctada fucata martensii* (Dunker). *Aquac. Res.* 42, 57–64. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02552.x>
- Wang, H., Liu, J., Li, Y., Zhu, X., Liu, Z., 2014. Responses to two-way selection on growth in mass-spawned F1 progeny of *Argopecten irradians concentricus* (Say). *J. Oceanol. Limnol* 32, 349–357. <https://doi.org/10.1007/s00343-014-3153-z>
- Wang, Q., Yu, Y., Yuan, J., Zhang, X., Huang, H., Li, F., Xiang, J., 2017. Effects of marker density and population structure on the genomic prediction accuracy for growth trait in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *BMC Genet.* 18, 45. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0507-5>
- Wang, X., Xu, W., Wei, L., Zhu, C., He, C., Song, H., Cai, Z., Yu, W., Jiang, Q., Li, L., Wang, K., Feng, C., 2019. Nanopore sequencing and *de novo* assembly of a black-shelled Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) Genome. *Front. Genet.* 10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01211>
- Wang, Z., Hu, H., Sun, T., Li, X., Lv, G., Bai, Z., Li, J., 2022. Genomic selection for improvement of growth traits in triangle sail mussel (*Hyriopsis cumingii*). *Aquaculture* 561, 738692. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738692>
- Williams, S.T., 2017. Molluscan shell colour. *Biol. Rev.* 92, 1039–1058. <https://doi.org/10.1111/brv.12268>
- Xing, D., Li, Q., Kong, L., Yu, H., 2018. Heritability estimate for mantle edge pigmentation and correlation with shell pigmentation in the white-shell strain of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 482, 73–77. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.026>
- Xu, J., Zhao, Z., Zhang, X., Zheng, X., Li, J., Jiang, Y., Kuang, Y., Zhang, Y., Feng, J., Li, C., Yu, J., Li, Q., Zhu, Y., Liu, Y., Xu, P., Sun, X., 2014. Development and evaluation of the first high-throughput SNP array for common carp (*Cyprinus carpio*). *BMC Genom.* 15, 307. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-307>
- Xu, L., Li, Q., Yu, H., Kong, L., 2017. Estimates of heritability for growth and shell color traits and their genetic correlations in the black shell strain of Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Mar. Biotechnol.* 19, 421–429. <https://doi.org/10.1007/s10126-017-9772-6>
- Yan, J., Zhang, J., Sun, Q., Yan, X., Sheng, J., 2021. The unique UV–Vis reflection features of the nacre of *Hyriopsis cumingii* shells, and its formation mechanisms. *Dyes Pigm.* 184, 108753. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108753>
- Yáñez, J.M., Barría, A., López, M.E., Moen, T., García, B.F., Yoshida, G.M., Xu, P., 2022. Genome-wide association and genomic selection in aquaculture. *Rev. Aquac.* <https://doi.org/10.1111/raq.12750>
- Yang, B., Zhai, S., Zhang, F., Wang, H., Ren, L., Li, Y., Li, Q., Liu, S., 2022. Genome-wide association study toward efficient selection breeding of resistance to *Vibrio alginolyticus* in Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 548, 737592. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737592>
- Yin, X., Arias-Pérez, A., Kitapci, T.H., Hedgecock, D., 2020a. High-density linkage maps based on genotyping-by-sequencing (GBS) confirm a chromosome-level genome assembly and reveal variation in recombination rate for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *G3: Genes Genomes Genet.* 10, 4691–4705. <https://doi.org/10.1534/g3.120.401728>
- Yoshida, G.M., Carvalheiro, R., Lhorente, J.P., Correa, K., Figueroa, R., Houston, R.D., Yáñez, J.M., 2018. Accuracy of genotype imputation and genomic predictions in a two-generation farmed Atlantic salmon population using high-density and low-density SNP panels. *Aquaculture* 491, 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.004>

- Zenger, K.R., Khatkar, M.S., Jones, D.B., Khalilisamani, N., Jerry, D.R., Raadsma, H.W., 2019. Genomic selection in aquaculture: Application, limitations and opportunities with special reference to marine shrimp and pearl oysters. *Front. Genet.* 9. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00693>
- Zhang, Guofan, Fang, X., Guo, X., Li, L., Luo, R., Xu, F., Yang, P., Zhang, L., Wang, X., Qi, H., Xiong, Z., Que, H., Xie, Y., Holland, P.W.H., Paps, J., Zhu, Y., Wu, F., Chen, Y., Wang, Jiafeng, Peng, C., Meng, J., Yang, L., Liu, J., Wen, B., Zhang, N., Huang, Z., Zhu, Q., Feng, Y., Mount, A., Hedgecock, D., Xu, Z., Liu, Y., Domazet-Lošo, T., Du, Y., Sun, X., Zhang, Shoudu, Liu, B., Cheng, P., Jiang, X., Li, J., Fan, D., Wang, W., Fu, W., Wang, T., Wang, B., Zhang, J., Peng, Z., Li, Yingxiang, Li, Na, Wang, Jinpeng, Chen, M., He, Y., Tan, F., Song, X., Zheng, Q., Huang, R., Yang, Hailong, Du, X., Chen, L., Yang, M., Gaffney, P.M., Wang, S., Luo, L., She, Z., Ming, Y., Huang, W., Zhang, Shu, Huang, B., Zhang, Y., Qu, T., Ni, P., Miao, G., Wang, Junyi, Wang, Q., Steinberg, C.E.W., Wang, H., Li, Ning, Qian, L., Zhang, Guojie, Li, Yingrui, Yang, Huanming, Liu, X., Wang, Jian, Yin, Y., Wang, Jun, 2012. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature* 490, 49–54. <https://doi.org/10.1038/nature11413>
- Zheng, H., Zhang, G., Liu, X., Zhang, F., Guo, X., 2004. Different responses to selection in two stocks of the bay scallop, *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 313, 213–223. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2004.04.015>
- Zhong, X., Li, Q., Kong, L., Yu, H., 2017. Estimates of linkage disequilibrium and effective population size in wild and selected populations of the Pacific oyster using single-nucleotide polymorphism markers. *J. World Aquac. Soc.* 48, 791–801. <https://doi.org/10.1111/jwas.12393>

3. Conclusion/ouverture

3.1. Progrès génétiques

La mise en œuvre d'un programme de sélection vise à l'amélioration génétique de caractères au sein d'une population. Le progrès génétique dépend de la base génétique du caractère (héritabilité), de l'intensité de la sélection et de la précision de l'évaluation des candidats à la sélection.

Dans cette étude, en appliquant une pression de sélection de 10% et en procédant à une sélection mono-caractère pour chaque phénotype, des gains génétiques parfois importants ont été estimés (Tableau 1). Ce gain génétique a été calculé avec l'équation du progrès génétique développé dans l'introduction (voir Chapitre 1, section 3.4.1.4) (Falconer and Mackay, 1996). Une sélection classique avec un modèle BLUP permettrait une augmentation moyenne du poids de chair de 0,5g par génération dans les deux populations étudiées, équivalent à un gain de 7% pour P1 et 11,5% pour P2. En raison d'un phénotypage plus précoce de la population 2, sa moyenne pour ce caractère est plus basse. Ainsi, un gain génétique équivalent entraîne une estimation de la réponse à la sélection en pourcentage plus élevée. Une sélection BLUP sur le poids total permettrait quant à elle une augmentation de 3,8g et 4,4g dans P1 et P2 respectivement, soit un gain de 5,7% et 7,6% par rapport à la moyenne de la génération précédente. Pour les caractères de couleur d'intérêt sur les huîtres, les progrès génétiques avec une sélection BLUP sont faibles comme par exemple avec un gain seulement de 0,7% dans P1 et 4,8% dans P2 pour l'intensité moyenne de sombre (MDI). Cependant, les gains sont plus importants avec le même modèle pour le pourcentage de surface sombre avec 11,6% pour P1 et 31% pour P2.

La sélection génomique permettrait des gains systématiquement plus élevés excepté pour les caractères de faibles héritabilités génomiques estimés dans P1 que sont la valeur moyenne de a^* (AV) et l'intensité moyenne de sombre (MDI) pour la valve supérieure. La sélection génomique pour les caractères de couleur n'apporte que très peu de progrès génétique supplémentaire par rapport à une sélection BLUP dans la population 1. A l'inverse, dans la population 2 le progrès peut être important avec par exemple un gain de 40,7% sur le pourcentage de surface sombre (PDA) par rapport à la moyenne de la précédente génération et cette fois un gain de 8,3% de la moyenne de l'intensité de sombre (MDI). Ces écarts peuvent

s'expliquer par la différence d'héritabilité obtenue pour ces caractères entre les deux populations. Pour une sélection sur le poids de chair, une augmentation de 0,9g et 0,8g par génération est attendue, correspondant à un gain de 12,3% et 16,7% pour P1 et P2 respectivement. Des gains de poids totaux de 10,8% pour P1 et 9,7% pour P2 sont également estimés par rapport à la moyenne de la génération précédente

Tableau 1: Estimation du progrès génétique attendu (ΔG) et représentation en pourcent par rapport à la moyenne du phénotype ($\% \Delta G$) pour l'ensemble des caractères dans les deux populations avec soit un modèle BLUP soit un modèle GBLUP et une pression de sélection de 10%.

| | | P1 | | | | P2 | | | |
|--------------------------------|------------------------------|------------|---------------|------------|---------------|------------|---------------|------------|---------------|
| | | BLUP | | GBLUP | | BLUP | | GBLUP | |
| | | ΔG | $\% \Delta G$ |
| Height | (H, mm) | 0,6 | 2,0 | 0,9 | 3,2 | 0,8 | 3,0 | 1,2 | 4,4 |
| Width | (W, mm) | 0,6 | 1,3 | 1,3 | 2,7 | 2,5 | 5,3 | 2,9 | 6,1 |
| Length | (L, mm) | 2,5 | 2,9 | 3,4 | 3,9 | 2,9 | 3,4 | 3,8 | 4,5 |
| Wet Flesh Weight | (FW, g) | 0,5 | 7,0 | 0,9 | 12,3 | 0,5 | 11,5 | 0,8 | 16,7 |
| Lower Valve Weight | (LVW, g) | 1,9 | 6,9 | 3,2 | 11,6 | 1,8 | 7,3 | 2,1 | 8,6 |
| Upper Valve Weight | (UVW, g) | 1,2 | 7,0 | 1,8 | 10,8 | 1,2 | 10,2 | 1,6 | 13,8 |
| Total Weight | (TW, g) | 3,8 | 5,7 | 7,2 | 10,8 | 4,4 | 7,6 | 5,6 | 9,7 |
| Lower Valve Area | (LVA, mm²) | 204,8 | 5,8 | 322,5 | 9,1 | 252,8 | 7,7 | 310,6 | 9,4 |
| Upper Valve Area | (UVA, mm²) | 164,0 | 5,7 | 271,9 | 9,5 | 182,3 | 7,4 | 243,4 | 9,8 |
| L* Value | (LV) | 1,6 | 3,7 | 1,6 | 3,8 | 2,6 | 5,6 | 3,2 | 6,9 |
| a* Value | (AV) | 0,2 | 8,3 | 0,1 | 3,4 | 0,2 | 16,0 | 0,3 | 22,8 |
| b* Value | (BV) | 0,9 | 4,8 | 1,2 | 6,1 | 1,6 | 8,1 | 2,0 | 10,3 |
| Mean Darkness Intensity | (MDI) | 0,2 | 0,7 | 0,1 | 0,5 | 1,0 | 4,8 | 1,8 | 8,3 |
| Percent of Dark Area | (PDA, %) | 2,5 | 11,6 | 2,7 | 12,6 | 5,0 | 31,0 | 6,6 | 40,7 |

Ces résultats montrent les gains potentiels de populations génétiquement améliorées que ce soit par sélection sur pedigree ou par sélection génomique. Avec des estimations de gains génétiques plus importantes avec l'information génomique et des niveaux d'héritabilité suffisants, la croissance semble être tout particulièrement adaptée pour la mise en place de la sélection génomique dans les deux programmes de sélection commerciaux existants. Une plus forte croissance dans un élevage est importante car cela induit un temps de production réduit, un nombre de manutentions inférieur et, pour les huîtres étant exposées au milieu ouvert, un temps d'exposition raccourci aux conditions environnementales potentiellement stressantes et à risque (agents pathogènes, polluants, pH, température...). La production des huîtres doit cependant s'accorder avec les variations de croissance liées aux saisons et coïncider avec les périodes de commercialisation. De plus, des études récentes (Pernet et al., 2019 ; Petton et al., 2023) montrent que l'augmentation de la croissance par la température, la quantité de nourriture ou la sélection d'animaux à croissance rapide augmentait la mortalité. Les auteurs suggèrent que les facteurs de stimulation de la croissance peuvent

favoriser le développement de pathogènes intracellulaires obligatoires et le risque d'épidémie. Une croissance plus rapide des huîtres peut aussi induire une plus grande fragilité des coquilles ce qui peut affecter la rentabilité de la production (Handley, 2002 ; Robert et al., 1993). En définitive, dans le contexte de l'élevage de l'huître creuse dans des milieux ouverts, la mise en œuvre d'une sélection basée sur la croissance pourrait être envisagée pour les lots destinés à des sites caractérisés par un faible potentiel de croissance (site oligotrophe, caractérisé par des températures froides, avec une faible production primaire). Toutefois, il est essentiel de considérer que cette approche pourrait ne pas convenir aux huîtres élevées dans des environnements à fort potentiel de croissance. Ce cas concret de caractères de croissance démontre la complexité inhérente à l'optimisation des schémas de production et à l'amélioration génétique de l'espèce, soulevant ainsi des défis pour une gestion durable et efficace de la production de d'huîtres.

Pour les caractères de couleur, les résultats sont plus contrastés entre les deux populations étudiées. De et al. (2019) ont démontré que les performances de différentes familles variaient selon deux sites d'élevage, mettant ainsi en évidence les interactions entre le génotype et l'environnement ($G \times E$) sur les caractères de couleur de la coquille. Dans notre étude, les effets de site sont confondus avec les populations, ce qui pourrait expliquer les différences observées. Si l'intention de sélectionner en fonction de la couleur persiste au sein de la population 1, il faudrait effectuer des essais dans différents sites d'élevage afin de déterminer lequel permet une meilleure expression du phénotype des animaux. Une autre possibilité expliquant les différences de résultats entre les deux populations serait un manque de diversité phénotypique/génétique dans la population 1 révélé par une héritabilité très faible pour ces caractères. Inclure de nouveaux animaux issus d'une autre lignée dans le schéma de sélection permettrait d'apporter de la diversité génétique et d'améliorer ces caractères. Pour la population 2, avec ces conditions d'élevage, une sélection sur les différents caractères de couleur est envisageable. Une telle particularité peut être exploitée pour proposer des huîtres avec une image de marque reconnaissable, à l'instar de certains producteurs qui mettent en avant des huîtres à la couleur de coquille très sombre (https://www.marinove.fr/temp_orka).

3.2. Effectif efficace

Même si les caractères étudiés montrent une héritabilité et une précision des prédictions des EBVs suffisantes pour obtenir un progrès génétique substantiel pour cette génération, il faut s'assurer que la diversité génétique soit maintenue au cours des générations. Nous avons abordé cette thématique dans l'article présenté précédemment, en estimant l'effectif efficace (N_e) pour la génération étudiée dans les deux populations. En maintenant un N_e à ce niveau dans les générations futures des deux populations, il est estimé que cela serait suffisant pour limiter la perte de diversité liée à la dérive génétique (voir Article 1). Le déséquilibre de liaison (r^2) estimé pour les deux populations (voir Article 1, Figure 2), associé à la distance génétique entre les marqueurs (c) (obtenue grâce à la distance physique et la moyenne du taux de recombinaison des chromosomes) permettent d'estimer le N_e sur plusieurs générations précédentes. Comme dans l'article de ce chapitre, la méthodologie suivie pour estimer l'évolution du N_e s'appuie sur la méthode utilisée par D'Ambrosio et al. (2019) qui utilise l'information du déséquilibre de liaison mais avec un taux de recombinaison moyen chez l'huître creuse considéré de 2,0, intermédiaire à ce qui a été estimé dans la littérature (Gagnaire et al., 2018 ; Yin et al., 2020). La Figure 17 présente l'évolution du N_e pour un taux de recombinaison de 2,0, dans les deux populations P1 et P2, sur les 8 générations précédentes à celle étudiée. On peut noter une augmentation du N_e sur les deux dernières générations dans les deux populations. Le SYSAAF a développé la suite logiciel OPTIVAR pour permettre l'utilisation de la méthode d'optimisation des contributions (OCS) dans la sélection des candidats reproducteurs. Grâce à l'OCS et à OPTIVAR, il est possible de minimiser la consanguinité intrafamille en créant des croisements appropriés entre les individus sélectionnés. Ces avancées contribuent probablement aux augmentations du N_e observés et confortent les résultats précédents montrant la faisabilité de la sélection génomique dans les populations d'huîtres sous sélection.

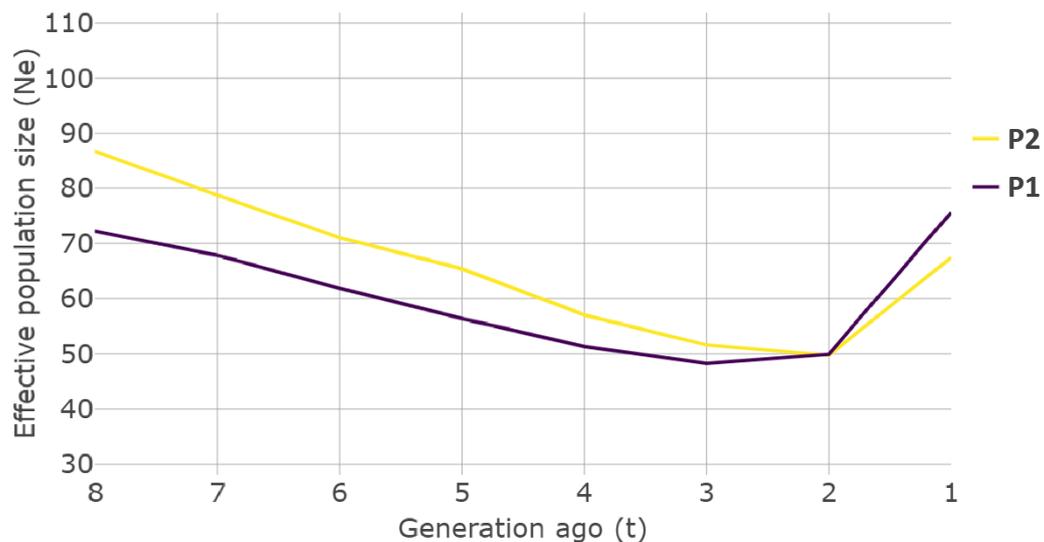


Figure 17 : Effectif efficace (N_e) calculé à partir du déséquilibre de liaison moyenné par chromosome sur les 8 générations précédant les deux population étudiées.

3.3. Architecture génétique

Un nombre limité d'études de QTL a été réalisé pour examiner la base génétique des caractères liés à la croissance de l'huître creuse (Guo et al., 2012 ; He et al., 2021 ; J. Wang et al., 2018), indiquant généralement que ces caractères sont de nature polygénique. Pour les caractères de couleur, les analyses d'association par GWAS se sont orientées sur des espèces d'huîtres perlières (Wang et al., 2022) ou de pétoncles (Zhao et al., 2017) mais pas chez l'huître creuse où la méthode « *d'interval mapping* » a été utilisée (Han et al., 2021 ; Song et al., 2018 ; J. Wang et al., 2018). Grâce aux ressources de génotypage récemment développées, les études d'association pangénomique (GWAS) pourraient permettre d'associer les caractères étudiés à leur génétique sous-jacente.

Pour détecter les régions génomiques liées aux caractères étudiés dans les deux populations, nous avons effectué une analyse GWAS en utilisant un modèle GBLUP. Cette analyse a été réalisée en utilisant la suite de logicielle BLUPf90 et le programme postGSf90 (Aguilar et al., 2014).

Un QTL a été déterminé lorsqu'un SNP a présenté un effet significatif au seuil de 5% corrigé selon la méthode de Bonferroni, ce qui équivaut à un $\log(p_value)$ supérieur à environ 5,4 à l'échelle du génome pour nos deux populations. Comme le SNP avec le $\log(p_value)$ le plus élevé ne coïncide pas toujours avec celui le plus proche d'une éventuelle mutation causale,

un intervalle de confiance a été défini en suivant la méthode décrite dans Michenet et al., (2016). Tous les SNP avec un $\log(p_value)$ supérieur à 3 (seuil défini empiriquement et choisi pour cet ensemble de données définissant une limite avec le bruit de fond), ont également été inclus dans la région QTL s'ils se trouvaient dans une fenêtre coulissante de 1 Mb de part et d'autre du pic SNP. Les limites des QTL ont été définies en utilisant cette fenêtre coulissante jusqu'à ce qu'aucun SNP n'ait un $\log(p_value)$ supérieur à 3.

La part de variance expliquée par un QTL a été calculée comme la somme des parts de variance expliquée par chaque SNP compris dans l'intervalle de confiance.

$$V_{SNP_i} = 2p_iq_ia_i^2$$

p_i et q_i étant les fréquences des allèles pour le SNP_i, a_i l'effet additif du SNP_i.

Les résultats de l'analyse de l'architecture des caractères de couleur et de croissance sont présentés dans la Figure 18 et le Tableau 2. Il apparaît que les caractères de croissance sont très polygéniques avec seulement trois QTLs détectés sur le groupe de liaison 7 dans la population 2 qui expliquent chacun 0,4% et 2% de la variance génétique pour le poids total et 1,5% de la variance génétique pour la surface de la valve supérieure. Ces résultats sont en accord avec une étude récente (He et al., 2021) qui a identifié 212 SNPs candidats associés à la croissance de la coquille mais pas de QTL majeurs. Les auteurs suggèrent que la croissance ou la forme de la coquille est probablement contrôlée par de nombreux gènes mineurs. Il est aussi possible que cela soit dû à la plus grande plasticité des caractères de la coquille des mollusques et à l'influence d'autres facteurs externes importants comme l'environnement.

Pour les caractères de couleur, seul un SNP est détecté dans la population 1 sur le groupe de liaison 9 pour la valeur moyenne de b^* . Cette détection semble peu fiable car un seul SNP est détecté. De plus il ne se situe pas à proximité de la zone de QTL détecté dans la population 2 pour le même caractère. Il est à noter que l'ensemble des QTLs détectés pour les caractères de couleur dans la population 2 est situé sur le groupe de liaison 9. Ainsi deux QTLs ont été détectés pour LV expliquant 2,6% et 1,7% de la variance génétique, trois QTLs ont été détectés pour MDI expliquant 0,9%, 1,6% et 18% de la variance génétique. La variance expliquée semble intéressante mais la position est très imprécise avec un intervalle de confiance de plus de 12,5 Mb. Enfin deux QTLs ont été détectés pour PDA expliquant 4,6 et 1,9% de la variance génétique. Les intervalles de confiance attribués à ces QTLs sont assez étendus, ce qui rend

difficile l'identification précise des gènes responsables des variations de performance observées. Une analyse par approche bayésienne pourrait permettre de mieux estimer les effets des SNPs et leurs variances par exemple en divisant la variance génétique en deux composantes : un effet faible polygénique pour tous les SNPs et un QTL a effet fort pour un ensemble limité de SNP. Finalement, pour une détection plus précise sur ce type de caractère en se basant sur ces résultats, il apparaît évident qu'une augmentation de la densité de marqueurs est grandement nécessaire. En effet bien que le groupe de liaison 9 soit le plus petit, il est aussi parmi les moins bien couverts avec seulement environ 9 SNPs par Mb et une distance moyenne d'environ 110 kb entre deux SNPs adjacents pour les deux populations.

Pour conclure, ces résultats écartent la possibilité d'effectuer une sélection assistée par marqueur efficace pour ces caractères importants pour la filière ostréicole que sont les caractères de croissance mais aussi pour les caractères de qualité comme la couleur. Cela renforce encore davantage l'intérêt que doivent porter les entreprises de sélection pour la sélection génomique.

Tableau 2: Statistiques descriptives des QTL détectés pour les caractères croissance et de qualité en GWAS par approches GBLUP dans les deux populations étudiées (la ligne grisée révèle le seul QTL détecté dans la population 1). LG : groupe de liaison

| Phenotype | | Population | LG | Position (pb) | snp_ID | Log(P-value) | Intervalle de confiance (Mb) | Var (%) |
|-------------------------|-------------------------|------------|----|---------------|--------------|--------------|------------------------------|---------|
| Total Weight | (TW, g) | 2 | 7 | 18676126 | AX-169159861 | 5,9 | 15,43 - 18,74 | 2,0 |
| Total Weight | (TW, g) | 2 | 7 | 36011210 | AX-169182189 | 5,8 | 35,44 - 36,01 | 0,4 |
| Upper Valve Area | (UVA, mm ²) | 2 | 7 | 18676126 | AX-169159861 | 5,9 | 16,45 - 18,74 | 1,5 |
| L* Value | (LV) | 2 | 9 | 17739687 | AX-169173745 | 6,0 | 17,69 - 22,13 | 2,6 |
| L* Value | (LV) | 2 | 9 | 33008189 | AX-169159040 | 6,8 | 30,52 - 34,59 | 1,7 |
| b* Value | (BV) | 2 | 9 | 33008189 | AX-169159040 | 6,7 | 31,87 - 33,01 | 0,9 |
| b* Value | (BV) | 1 | 9 | 12420956 | AX-169167098 | 6,2 | 12,42 - 12,42 | 0,9 |
| Mean Darkness Intensity | (MDI) | 2 | 9 | 13442987 | AX-169177063 | 5,8 | 10,11 - 13,44 | 1,6 |
| Mean Darkness Intensity | (MDI) | 2 | 9 | 18981325 | AX-169193905 | 14,4 | 15,86 - 28,42 | 18,4 |
| Mean Darkness Intensity | (MDI) | 2 | 9 | 33008189 | AX-169159040 | 5,8 | 31,87 - 33,01 | 0,9 |
| Percent of Dark Area | (PDA, %) | 2 | 9 | 19737461 | AX-169175689 | 7,7 | 17,13 - 23,60 | 4,6 |
| Percent of Dark Area | (PDA, %) | 2 | 9 | 33008189 | AX-169159040 | 7,4 | 30,52 - 34,59 | 1,9 |

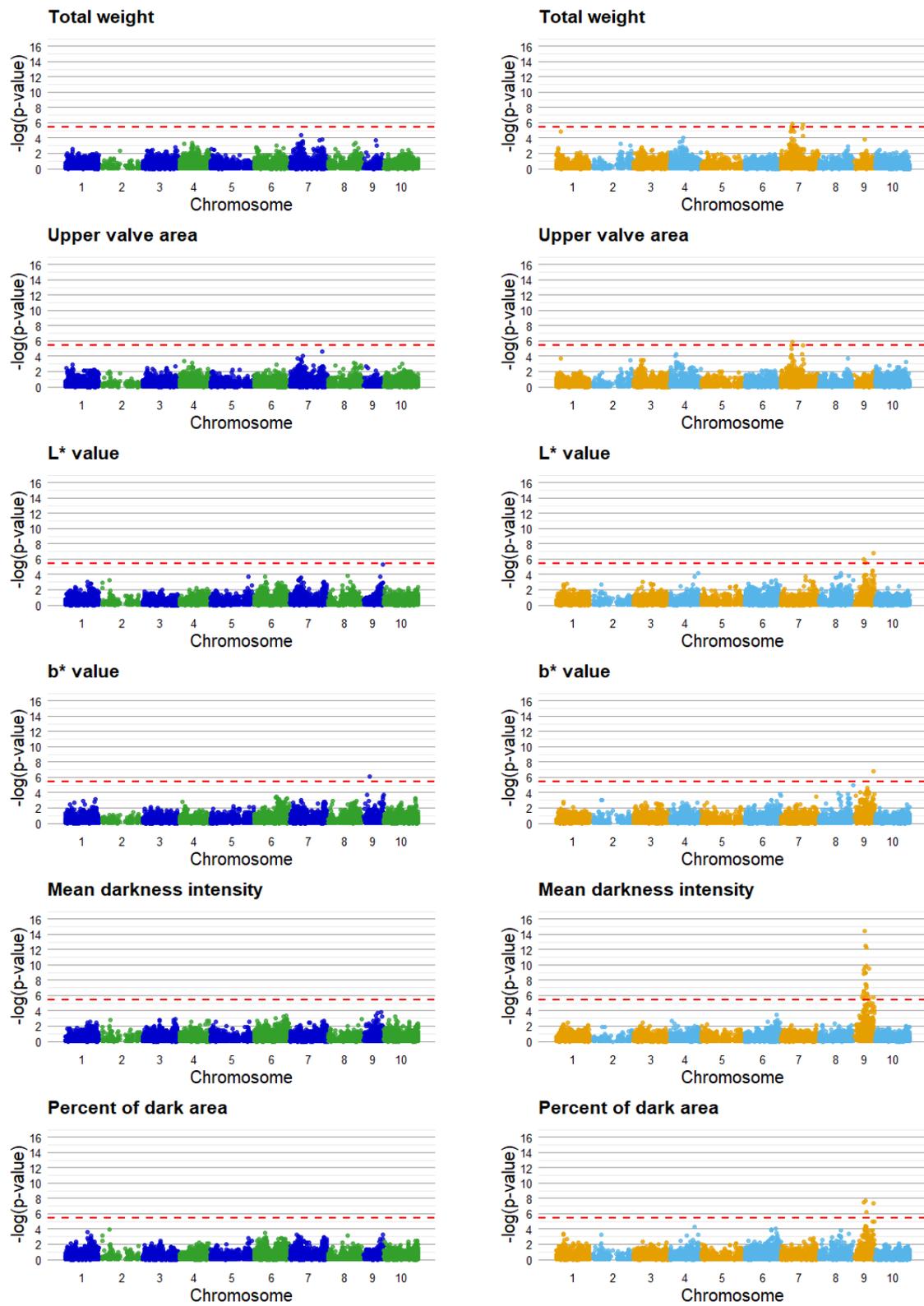


Figure 18: Comparaison des manhattan plot des caractères montrant une association significative avec des SNPs dans au moins une population (population 1 à gauche et population 2 à droite).

Chapitre 3

Analyse des caractères de résistance aux maladies dans un contexte de coinfection par une bactérie et un virus chez *C. gigas*

1. Avant-propos

Depuis 2008, la filière ostréicole française est confrontée à un problème majeur de mortalité du naissain d'huîtres creuses. Chaque printemps, lorsque la température de l'eau de mer dépasse les 16°C (Pernet et al., 2012 ; Petton et al., 2013), des pertes importantes surviennent principalement chez les naissains, en raison de la présence du variant microvar (μ var) de l'herpès virus OsHV-1 (Segarra et al., 2010). Ces mortalités impactent particulièrement les jeunes huîtres qui n'ont pas été exposées au virus auparavant. Les conséquences sont importantes pour le secteur ostréicole car cela peut mener à une pénurie de naissain et une diminution des volumes d'huîtres disponibles sur le marché (Fuhrmann et al., 2019 ; Girard and Pérez Agúndez, 2014). Enfin, les huîtres survivantes ne semblent plus sensibles lors d'expositions ultérieures à OsHV-1 (Dégremont et al., 2010).

Bien que des alternatives aient été testées pour compenser ces pertes comme l'augmentation du nombre de dispositifs de captage, des variations des densités d'élevage ou des temps d'immersion (Carrasco et al., 2017 ; Normand et al., 2014 ; Pernet et al., 2012), ces solutions n'ont pas permis de retrouver les niveaux de production d'avant 2008. De plus, depuis 2012, des mortalités massives touchant également des huîtres adultes de taille commerciale ont été observées (Travers et al., 2015). La bactérie *V. aestuarianus*, régulièrement détectée lors

de ces épidémies (Mesnil et al., 2022), est considérée comme un facteur déterminant de la mortalité chez les huîtres.

Des recherches ont indiqué que l'ADN de deux agents pathogènes, OsHV-1 et *V. aestuarianus*, a été détecté dans des animaux morts lors d'épidémies (Saulnier et al., 2010 ; Solomieu et al., 2021). Des études ont également démontré que des huîtres adultes ayant survécu à une épidémie de mortalité causée par OsHV-1 au stade du naissain pouvaient être simultanément infectées par OsHV-1 et *V. aestuarianus* (Azéma et al., 2017 ; Dégremonet et al., 2019). Ces résultats soulèvent des préoccupations quant à la possibilité de co-infection chez les huîtres, ce qui pourrait avoir des répercussions importantes sur la production ostréicole. En effet l'interaction entre agents pathogènes pourrait être un facteur de surmortalité, le système immunitaire des huîtres ayant survécu à une précédente infection au virus ne pouvant pas résister/contrôler le développement d'une double infection. Les bactéries du genre *Vibrio* dont *V. aestuarianus* et OsHV-1 ont été identifiées comme faisant partie de la maladie du syndrome de mortalité des huîtres du Pacifique (POMS) en France (Clerissi et al., 2023, 2020 ; de Lorgeril et al., 2018 ; Petton et al., 2021b) et dans le monde (Barbosa Solomieu et al., 2015 ; Delisle et al., 2022), montrant une interaction entre les agents pathogènes sur le terrain et lors d'infections expérimentales, principalement après l'âge de 4 mois (Azéma et al., 2016).

La combinaison de ces deux agents pathogènes a eu des conséquences importantes sur les populations naturelles et les élevages d'huîtres creuses en France, entraînant une diminution significative de la production annuelle. L'industrie ostréicole a dû trouver des solutions pour faire face à cette situation critique engendrée par les maladies. Des programmes de sélection ont été mis en place pour améliorer la résistance d'abord face à OsHV-1 (Azéma et al., 2017 ; Camara et al., 2017 ; Dégremonet et al., 2015c, 2015b ; Divilov et al., 2021 ; Gutierrez et al., 2018 ; Gutierrez et al., 2020) puis des programmes de sélection expérimentaux ont montré des bases génétiques suffisantes pour mettre en place une sélection sur la résistance à *V. aestuarianus* (Azéma et al., 2016 ; Dégremonet et al., 2021, 2020). De la même manière, la corrélation génétique entre la résistance à OsHV-1 et la résistance à *V. aestuarianus* était non significativement différente de zéro, suggérant la possibilité de sélectionner des animaux pour une double résistance (Azéma et al., 2017).

Cependant aucune étude ne prend en considération le cas de la résistance à la coinfection comme caractère à améliorer malgré de potentiels effets d'interactions entre agents

pathogènes, remettant en question la pertinence de la sélection à un seul agent pathogène dès lors que les huîtres peuvent être exposées simultanément au virus et à la bactérie. Le développement des puces à plusieurs milliers de marqueurs SNP pour l'huître creuse permet de mettre en place une étude comparative d'évaluation génomique de la résistance aux deux agents pathogènes affectant la filière française et européenne – OsHV-1 et *V. aestuarianus* – mais aussi de la résistance en cas de coinfection. Cette puce permet également une étude de l'architecture génétique pour ces trois caractères constituant une approche précieuse pour comprendre les principaux mécanismes à l'origine de la résistance aux maladies polymicrobiennes.

Ce chapitre présente l'étude de l'architecture génétique et l'évaluation de la sélection génomique visant à améliorer les caractères de résistance à deux agents pathogènes chez l'huître creuse.

Pour cela, une population expérimentale d'huîtres de 100 familles a été produite avec des géniteurs de trois origines différentes : individus issus de deux générations de sélection massale sélectionnés pour une double résistance à l'exposition sur le terrain à OsHV-1 et ensuite à un challenge contrôlé à *V. aestuarianus* ; individus sauvages d'une zone d'élevage ; individus sauvages hors zone d'élevage. Pour ce travail, j'ai participé à toutes les étapes de production, de la ponte aux élevages larvaire, puis micronurserie et nurserie, consistant à surveiller, nettoyer les bacs, et réduire progressivement les densités d'individus au cours de la croissance sur l'ensemble des familles. La vigilance et les bonnes pratiques ont permis de garder la totalité des familles. Avant d'envoyer les animaux à la nurserie, les familles ont été mélangées de manière à avoir un nombre équivalent d'animaux provenant de chaque famille. Cette dernière étape de production a précédé les infections expérimentales qui ont eu lieu 7 mois après la ponte.

Les animaux ont été soumis à un protocole de cohabitation afin de tester leur résistance face aux trois conditions : *V. aestuarianus*, OsHV-1 et la coinfection. Pour ce protocole, les huîtres donneuses ont été choisies, provenant d'une famille préalablement déterminée comme sensible à OsHV-1 par un testage précoce au stade naissain par balnéation de toutes les familles (Annexe 5). Ensuite, les challenges se sont déroulés sur une durée de 2 mois au cours desquels la mortalité et les prélèvements de manteau se sont fait quasiment quotidiennement pour les ≈2000 huîtres challengées par condition. Au total, 2304 animaux

dont les 50 parents ont été génotypés sur la puce Axiom Affymetrix 57K SNP bi-espèces, ce qui nous a permis d'analyser l'architecture génétique des caractères de résistance aux maladies en considérant l'interaction entre deux agents pathogènes de l'huître creuse. Les paramètres génétiques ont aussi été estimés pour ces trois conditions ainsi que la précision de sélection par validation croisée.

Ces résultats ont été présentés en communication orale au *International Symposium on Genetics in Aquaculture (ISGA)* en décembre 2022 à Puerto Varas au Chili et font également l'objet d'un projet d'article « *Genomic characterization of disease resistance to single or dual infection by OsHV-1 and Vibrio aestuarianus in the Pacific oyster Crassostrea gigas* » qui a été soumis à l'édition spécial ISGA du journal *Aquaculture*. A la suite de la dernière version soumise de l'article et présentée ici, nous présentons des analyses supplémentaires et des résultats complémentaires obtenus à partir du même jeu de données, qui n'ont pas été publiés dans un journal scientifique.

2. Article 2 : Analyse génomique de la résistance des huîtres du Pacifique *Crassostrea gigas* face à la coinfection par Ostreid Herpesvirus 1 et *Vibrio aestuarianus*

Exploring genomic resistance to coinfection: single or dual pathogen infection by Ostreid Herpesvirus 1 and *Vibrio aestuarianus* in Pacific oysters *Crassostrea gigas*

Antoine Jourdan^{1,2}, Florence Phocas⁵, Pierre Boudry³, Pierrick Haffray¹, François Allal⁴, Elise Maurouard², Serge Heurtebise², Benjamin Morga², Lionel Dégremont² & Romain Morvezen¹

¹ SYSAAF (French Poultry and Aquaculture Breeders Technical Centre), 35042 Rennes, France ;

² Ifremer, RBE, ASIM, Avenue de Mus de Loup, La Tremblade, 17390, France

³ Ifremer, RBE, 29280 Plouzané, France ;

⁴ MARBEC, Université Montpellier, CNRS, Ifremer, IRD, Palavas-les-Flots, France ;

⁵ Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, GABI, 78350 Jouy-en-Josas, France ;

Abstract

Coinfection with multiple pathogens is common in aquaculture. Since 2012, Pacific oysters have been affected by two main pathogens in Europe with additive or cooperative pathogenicity: the ostreid herpes virus type 1 (OsHV-1) and a bacteria *Vibrio aestuarianus*. In oysters, genetic improvement by selective breeding is effective in mitigating diseases caused by single pathogens, but little is known about resistance to coinfections. This study aimed to investigate genetic parameters and genomic architecture of disease resistance in *C. gigas* by comparing experimental infections to each of the two pathogens, as well as in coinfection. One hundred families were produced using three different genetic origins: two wild populations experiencing different pathogen pressures and experimentally selected oysters for their higher resistance to OsHV-1 and *V. aestuarianus* infections. The experimental infections were carried out on 7-month old juveniles with survival rates of 52%, 55% and 43%, for the bacterial, the viral and dual infection, respectively. Individuals were genotyped using a 40k SNPs array. Survival varied widely among families and parental origins. Heritability estimates for survival ranged from 0.20 to 0.50 for the three infections, and genetic correlations were low between *V. aestuarianus* and the two other experimental infections but very high between OsHV-1 and coinfection. Prediction accuracy was higher using genomic model than pedigree-based model, particularly for OsHV-1 and coinfection conditions for which larger numbers of individuals were genotyped better capturing all the genetic diversity. GWAS revealed a polygenic architecture for all

traits. However, five QTLs were detected in OsHV-1 as well as for coinfection conditions with one specific genomic region on linkage group 6 being related to a higher survival. Our results suggest that (1) geographic origin of oysters should be considered when establishing a breeding program for improved survival; (2) use of genomic selection and QTL mapping may lead to more efficient selection and faster genetic gain; and (3) coinfection challenge used in this study, which is likely to be closer to field conditions, is applicable and may be suitable for breeding programs. Our findings represent a significant step towards using genomic information to improve disease resistance in selective breeding programs for the Pacific oyster, and possibly in other aquaculture species.

Keywords: Oyster, Disease resistance, Coinfection, Genomic selection, Heritability, QTL

Highlights

- Genomic selection can improve survival of *C. gigas* to infections by *V. aestuarianus*, OsHV-1 as well as to both pathogens together.
- Coinfection should be further considered in selective breeding programs where multiple pathogens are involved.
- A region of linkage group 6 comprising 5 QTLs is associated with higher resistance to OsHV-1 and coinfection.

1. Introduction

Diseases have most often been studied considering a single infectious agent, despite numerous observations of coinfection involving several pathogens (Brogden et al., 2005). Coinfection is defined by the simultaneous infection of the host by at least two genetically different pathogens that coincidentally cause damage to the host (Cox, 2001). Studies on the effects of interactions between pathogens are relatively recent, and Moore and Jaykus (2018) stated that the importance of these interactions deserve more investigations in farmed species. As commonly reported in aquatic animals, Kotob et al. (2016) reviewed the existing literature regarding coinfection, describing both antagonistic or synergistic interactions between pathogens in Atlantic salmon, rainbow trout, Nile tilapia, channel catfish or whiteleg shrimp (Moore and Jaykus, 2018).

Oysters being reared in tidal areas or in the open sea with multiple pathogens exposure at once makes it a good candidate for the study of coinfections. As for many other farmed species, the production of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) is affected by several diseases leading to mass mortality (Krkošek, 2010; Murray and Peeler, 2005; Pernet et al., 2012). In France, all producing areas have been impacted since 2012, with two main pathogens: the ostreid herpes virus type 1 (OsHV-1) which affects from the larval to the adult stages (Nicolas et al., 1992), and a bacteria (*Vibrio aestuarianus*) that affects mostly juvenile and market-size adults (Azéma et al., 2017a; Dégremont et al., 2021), making greater economic loss. Survivors of a mortality outbreak due to OsHV-1 seem less susceptible to subsequent exposure to the virus (Dégremont et al., 2010a). Conversely, older animals exposed to *V. aestuarianus* experience higher mortality rates after their first exposure to the bacteria (Azéma et al., 2015). In recent studies, it has been observed that adults pacific oysters that survived a mortality outbreak related to OsHV-1 at the spat stage, can be infected by both OsHV-1 and *V. aestuarianus* simultaneously (Azéma et al., 2017b; Dégremont et al., 2019). This finding raises concerns about the potential for coinfection in oysters, which could have significant implications for oyster production.

Both pathogens have been described as part of the Pacific oyster mortality syndrome (POMS) disease in France (Petton et al., 2021), showing a synergistic pathogenicity in the field (Petton et al., 2015) and

in experimental infections mostly after 4 months of age (Azéma et al., 2016). de Lorgeril et al. (2018) demonstrated that OsHV-1 infection occurs first, resulting in an immune-compromised state by altering hemocytes physiology; then, the induced destabilization of the microbiota allows opportunistic bacteria (such as vibrios) to lyse the hemocytes leading to fatal bacteremia and high oyster mortality. Delisle et al. (2022) similarly found changes in the composition of microbial community exhibiting a significant correlation with viral load, viral replication, and survival rate. However they did not reveal notable abundance of taxa from the genus *Vibrio* as often associated with mortality (Pathirana et al., 2019; Petton et al., 2015) and could not conclude to a fatal bacteraemia.

Selective breeding could be one approach to mitigate diseases (Dégremont et al., 2015a; Hollenbeck and Johnston, 2018). Several studies using single-pathogen infection showed substantial additive genetic variation in survival to OsHV-1, with heritability estimates ranging from 0.12 to 0.63 depending on the model used, age and population studied (Azéma et al., 2017a; Camara et al., 2017; Dégremont et al., 2015a; Divilov et al., 2021; Gutierrez et al., 2018, 2020). As a result genetic improvement led to a mean survival increase from 35% after the first generation to 69% after fourth generations of mass selection (Dégremont et al., 2015b). For resistance to *V. aestuarianus* infection, low to moderate genetic variances were found at the juvenile and adult stages with heritability estimates ranging from 0.09 to 0.33 (Azéma et al., 2017a), and breeding programs have been showing a gain of survival of +14% in one generation at the adult stage (Dégremont et al., 2020). Genetic correlation between OsHV-1 and *V. aestuarianus* resistances to single-pathogen infections was null (Azéma et al., 2017a). Meanwhile, oysters selected for their higher resistance to OsHV-1 seem to have a more rapid anti-viral response preventing replication of OsHV-1 and then subsequent bacteraemia by opportunistic bacterial pathogens, among which *V. aestuarianus* (de Lorgeril et al., 2018; Delisle et al., 2022; Segarra et al., 2014).

Azéma et al. (2016) first investigated differences between families coinfecting with OsHV-1 and *V. aestuarianus*. Oysters selected for double resistance from successive challenges of mass selection to OsHV-1 on field and then to *V. aestuarianus* under controlled conditions reported heterogeneous results with low to high realized heritability and genetic gains (up to 68%) depending on the selected lines (Dégremont et al., 2020). Additionally, offspring from wild populations sampled in regions with farming or high oyster biomass, putatively submitted to selection for resistance to various microbial diseases, showed higher survival compared to oysters sampled in non-farming areas (de Lorgeril et al., 2020). Thus, exposure to a more or less infectious environment allows for differential resistance to polymicrobial outbreaks, suggesting a genetic basis for resistance to coinfection.

Only few studies showed that resistance to coinfection can be an heritable trait in aquaculture species, such as in *Crassostrea virginica* (Dégremont et al., 2012), *Saccostrea glomerata* (Dove et al., 2013) or Atlantic salmon (Lhorente et al., 2014). For Atlantic salmon, a null genetic correlation was estimated between resistance to a single infection and resistance to coinfection by the bacteria *Piscirickettsia salmonis* and the Sea Louse *Caligus rogercresseyi* questioning about the more adapted method of selection to apply. For the Pacific oyster, similar studies are needed to characterize the genetic components of resistance to coinfection.

To explore these questions, genomic resources exist in *C. gigas*, notably a reference genome (Peñaloza et al., 2021) and two SNP arrays: a high-density 190K SNP array (Qi et al., 2017) and a bi-species (Pacific oyster and European flat oyster) medium 57K SNP array (Gutierrez et al., 2017) allowing for genomic selection (GS) approaches (Boudry et al., 2021; Yáñez et al., 2022). A few studies have been conducted in oysters showing the increase in accuracy of GS over pedigree-based approaches notably for difficult to measure traits, such as lethal traits (Gutierrez et al., 2020, 2018; Jourdan et al., 2023). In *C. gigas*, genome-wide association studies (GWAS) were conducted for OsHV-1 resistance revealing a QTL on linkage group (LG) 6 with limited effect (Gutierrez et al., 2018) and another QTL on LG8 with a large effect (Divilov et al., 2023). These contrasted results may reflect the complexity of genetic architecture of disease resistance traits with population-specific genomic regions. Conducting GWAS for both single

and dual pathogens infections could be a valuable approach for understanding major mechanisms driving resistance to polymicrobial diseases (Ulveling et al., 2016). Identifying shared QTLs or divergent results might help to better understand interaction between pathogens in coinfection. To our knowledge, no study has reported this kind of genomic analysis in livestock or in aquaculture species.

In this context, our study aims to explore the genomic architecture and genomic selection accuracy of disease resistance in the Pacific oyster, comparing single-pathogen and coinfection challenges for both OsHV-1 and *V. aestuarianus*, using a population mixing different genetic backgrounds. To do so, three different genetic origins, one selected for its higher resistance to both pathogens and two wild stocks, were used by mating parents within and between origins in order to maximize phenotypic and genetic variation in the offspring. At the juvenile stage, experimental infections were conducted and GWAS was performed to identify specific or common QTLs for the resistance to each pathogen.

2. Materials and Methods

2.1. Broodstock selection and spawning

Three different origins of *C. gigas* were used: (1) wild oysters sampled at “Le Dellec” in the Bay of Brest (BOB) (Finistère, France: 48°21'26.2"N 4°33'18.2"W), a site where there is no farming of this species and where wild populations show low density due to limited recruitment, (2) a second wild origin sampled in the Seudre estuary which is an area with large oyster farming as well as extensive wild beds in the Marennes-Oleron Bay (MOB): 45°46'53.5"N, 1°7'19.5"W, and (3) five dams and three sires from an experimental breeding program conducted at Ifremer (IFR) selected for two successive generations of mass selection for dual resistance to on field exposure to OsHV-1 and then controlled challenge to *V. aestuarianus*. Because of the unbalanced sex ratio towards an excess of females in the stock selected for dual resistance, the last three males used were from another stock resulting from two generations of mass selection on field OsHV-1 exposure also conducted at Ifremer. Broodstock was transferred into the Ifremer facility in La Tremblade in December 2020. To avoid eventual horizontal transmission of pathogens, each stock was placed in separate tanks of 250 L in a flow through system with a water circulation of 500 L/h where seawater temperature was gradually increased from 10 to 20°C within one week. Broodstock were fed *ad libitum* with a mixture of phytoplankton (*Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, and *Skeletonema costatum*).

After 2 months of conditioning, mature oysters were reproduced to produce the families within a day in February 2021. Each oyster was shucked and sexed by microscopic observation. For BOB and MOB, gametes from 10 males and 10 females were individually collected by stripping while it was for 5 males and 5 females for IFR. For each of the 25 females, eggs were sieved on a 20 µm and 100 µm screens to remove small and large debris, the eggs being retained on the 20 µm screen. For each of the 25 males, spermatozoa were collected in a beaker after sieving the stripped gonads on a 20µm screen to remove large debris. After the stripping, the digestive gland of all parents was removed and the remaining tissue was placed in a 15ml tube with 100% ethanol for genotyping.

2.2. Crosses, larval and spat culture

The fertilization was carried out according to a partial diallelic breeding design: each sire was mated with four dams, and each dam with four sires along the diagonal of the mating plan, producing 100 full-sib families, 25 paternal half-sib families and 25 maternal half-sib families (Supplementary Figure 1). The number of families according to the origin of dams and sires are given in supplementary table 1. Briefly, the gametes of each female were split in four beakers, and each were fertilized with the sperm of one sire. Fifteen minutes post fertilization, embryos were sieved on a 20 µm screen to remove the remaining sperm, and each full-sib family was transferred and reared separately in 30 L tanks at 26°C with UV-treated (40 mj/cm²) and filtered (20 µm) seawater. The larval density was progressively reduced from 10 larvae per mL at day 1 to 2 larvae per mL at day 7. Seawater was changed three times per week, and air bubbling was provided for each tank. Larvae were fed daily

with *Isochrysis galbana*, supplemented with *Skeletonema costatum* from day 7. From day 14 to 20, around 30,000 pediveliger larvae per family were transferred into the nursery and were settled on cultch. Two weeks post settlement, density was reduced to 2,000 spat per family. Oysters were reared under standard sanitary protected hatchery conditions until they reached a size of 2 mm. Then, 150 oysters from each family were individually counted and then mixed at 2 months old. The remaining oysters were kept in separate family tanks. Finally, 12,500 oysters from the mixed families were transferred to the Ifremer nursery in Bouin (Vendée, France) in May 2021 for growing until the experimental infections. All hatchery and nursery steps were performed using filtered and UV-treated seawater to prevent potential contamination by OsHV-1 and *V. aestuarianus* naturally presents in the environment.

2.3. Experimental infections

Three experimental infections by cohabitation of the mixed families with naïve injected oysters (donors) were conducted in September 2021: a challenge with OsHV-1 only, a challenge with *V. aestuarianus* only, and a challenge with both OsHV-1 and *V. aestuarianus* simultaneously. This dual infection is considered as a coinfection condition throughout this study. For each challenge, a second infection by cohabitation was done three weeks after the first one to challenge the survivors.

A OsHV-1 viral suspension at a concentration of 1.5×10^5 copies/ μL was prepared according to Schikorski et al. (2011). The *V. aestuarianus* strain 02/041 was obtained at a concentration of 5×10^5 bacteria/ μL from an isolate maintained at -80°C and cultivated according to (Saulnier et al., 2010). 100 μL of pathogens suspension were injected in donors which were some of families produced from the wild stocks and kept separately and identified as highly susceptible to OsHV-1 (data not shown). Cohabitation experiments used were previously described in Azéma et al., 2016, 2017a.

For the experimental infection with the virus, 2000 juveniles (weighing 16.5g) of the mixed families were separated in 10 trays and placed in a tank filled with 500 L of seawater maintained at 20°C with aeration and 34‰ salinity. Then, donors, were placed inside the same tank for 48 hours at a ratio of 10 g per liter. At day 21 post-infection, seawater was renewed, and again, new donors injected with the virus were placed in contact with the mixed families for 48 hours. Food was supplied three times a week with 12 L of a mix of *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, and *Skeletonema costatum*. Dying oysters of the mixed families were removed daily from the tank, and tissue was collected and stored in ethanol 100% for subsequent genotyping or quantification of pathogens. In addition, seawater sampled were stored at -20°C for detection and quantification of pathogens (Table 1). This experimental infection lasted 37 days, and all surviving oysters were also sampled for genotyping.

Similar protocol was done for the cohabitation using *V. aestuarianus*, except that dying oysters were removed and sampled 3 times per week from day 23 to the end of the experiment which lasted 61 days. Finally, for the challenge using both pathogens, half of the donors were injected with the virus, and the other half with the bacteria as described in (Azéma et al., 2016). Protocol was then similar to the one used for the *V. aestuarianus* challenge but lasted 47 days.

A hundred oysters of the mixed families were also kept pathogen free and equally divided in two separate 50 L tanks as controls, and placed in contact with donors injected with filtered seawater. Food was supplied three times per week (1 liter per tank). At day 51, 20 live oysters were sampled for detection and quantification of pathogens.

2.4. Detection and quantification of OsHV-1 and *Vibrio aestuarianus* DNA

Moribund oysters (35 to 45, see Table 2) collected in each experiment were individually analyzed to detect OsHV-1 and *Vibrio aestuarianus*, as well as live oysters for the control condition (20 oysters). Total DNA was extracted from mantle tissue fragments using the QIAamp tissue mini kit (QIAGEN, Hilden, Germany) according to the manufacturer's protocol, as previously described by Schikorski et al. (2011). The total DNA concentration was measured using a Nanodrop spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) and adjusted to 5 ng/ μL . OsHV-1 DNA was detected and quantified

with the SYBR® green real-time PCR protocol described by Pepin et al. (2008) and adapted for use with the DPFor/DPRev primers to target the OsHV-1 DNA polymerase sequence (open reading frame [ORF] 100; DPF 5' ATT GAT GATGTG GAT AAT CTG TG 3' and DPR 5' GGT AAA TAC CAT TGG TCT TGTTC 3'; (Pepin, 2013). *V. aestuarianus* DNA was detected and quantified by real-time PCR according to the protocol described by Saulnier et al. (2009). The primers used were: DNAj-F 5' GTATGAAA TTTAACTGACCCACAA3'; DNAj-R 5' CAATTTCTTTTGAACAACCAC 3'; and DNAj probe 5' TGGTAGCGCAGACTTCGGCGAC). The real-time PCR cycling conditions were as follows: 3 min at 95 °C, followed by 40 cycles of amplification at 95 °C for 5 s and 60 °C for 20 s. Negative (DNA-free) controls were included. The results were expressed as viral or bacterial DNA copy number per ng of total DNA. Similarly, total DNA was extracted from 100 µL of seawater using the same protocol as described for tissue except that DNA extracted was used without dilution. Results were expressed as viral or bacterial DNA copy number per µL.

2.5. Genotyping and parentage assignment

All parents and a subset of offspring were genotyped on the bi-species 57K oyster array, Axiom_Oyster02 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) with 40,625 markers for *C. gigas* (Gutierrez et al., 2017).

Among the 2000 juveniles challenged for each experimental condition, 300, 674 and 1,280 oysters were genotyped for the *V. aestuarianus*, OsHV-1 and coinfection conditions, respectively. Due to a total amount of 2,254 samples affordable for genotyping, we chose to genotype only individuals with extreme phenotypes, leading to unbalanced number of genotype samples across the 3 conditions. For each condition, half were surviving oysters and half moribund oysters, sampled between day 4 and day 14 for the *V. aestuarianus* condition, and between day 2 and day 8 for the OsHV-1 condition with a daily number of samples proportional to the mortality rate of the day. For the coinfection condition, due to the non-overlapping death time windows involving the two pathogens, all moribund oysters were sampled from day 6 and day 14 (second and lowest mortality peak) and only a sample of the moribund oysters from the first mortality peak was genotyped with a number of samples proportional to the daily mortality rate between day 2 and day 4. This genotyping strategy was defined to ensure that oysters in the coinfection had a chance to be affected by both pathogens, to limit the impact of the first mortality peak which could be caused by OsHV-1 alone.

Genotyping was performed at the Gentyane Platform (INRAE, Clermont-Ferrand, France). Quality control analysis were carried out using the Axiom Analysis Suite software (AxAS). Individuals with a Dish Quality Control (DQC) greater than 0.82 and a Quality Control (QC) call rate greater than 97% were kept and additional SNP filtering was done according to Jourdan et al. (2023) recommendation. SNPs were retained with a call rate greater than 98.5%, a Minimum Allele Frequency (MAF) greater than 0.01, a Hardy-Weinberg deviation test p-value greater than 0.0001 and a Fisher's Linear Discriminant (FLD - a measure of genotype clustering quality of SNPs) greater than 5.3. The filters used were more stringent than the usual best practice workflow of the manufacturer, leading to a lower number of SNPs but of better genotyping quality (Jourdan et al.2023). The remaining 13,701 SNPs were mapped on the reference genome (Peñaloza et al., 2021), discarding SNPs with several possible positions and retaining 12,274 SNPs for further analyses.

Table 1 gives the number of oysters after each step of genotyping and filtering. Two parents (one BOB male and one MOB female) and six offspring (3 from OsHV-1 infection and 3 from coinfection) failed genotyping because of insufficient amount of DNA.

To retrieve more genotypes from parents, a second genotype calling was run, reducing the QC call rate to 86%, increasing the individual call rate to 99.5% and a minimum MAF of 0.45. Parentage assignment was performed with the 245 SNPs obtained and using COLONY v. 2.0.6.8 software (Wang 2012). If a parent was missing from the dataset, COLONY created *in silico* parent(s), allowing to reconstruct a complete pedigree for all offspring.

A total of 47 parents (one dam from MOB and one dam and one sire from BOB failed) and 2,245 offspring (3 individuals of OsHV-1 and 6 of coinfection failed) passed the QC of genotypes for parentage assignment (Table 1).

Only individuals with phenotype and genotype were used for further genomic analysis, thus the sample sizes were 297 for *V. aestuarianus* condition, 663 in OsHV-1 condition, 1,259 out oysters in coinfection condition (Table 1).

Table 1: Description of the number of oysters after each step of genotyping.

| | Sire | | | Dam | | | Offspring | | |
|---|------|-----|-----|-----|-----|-----|------------------------|--------|-------------|
| | BOB | MOB | IFR | BOB | MOB | IFR | <i>V. aestuarianus</i> | OsHV-1 | Coinfection |
| Number of oysters analyzed for genotyping | 10 | 10 | 5 | 10 | 10 | 5 | 300 | 674 | 1280 |
| Number of failure for genotyping | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 3 |
| Number of individuals passing QC threshold for parentage analyses | 9 | 10 | 5 | 9 | 9 | 5 | 300 | 671 | 1274 |
| Number of individuals passing QC threshold for genomic analyses | 9 | 10 | 5 | 7 | 7 | 5 | 297 | 663 | 1259 |

2.6. Estimation of genetic parameters

For each experimental infection, genetic parameters of disease resistance and the estimated breeding values (EBV) were derived with the following linear mixed model:

$$y = Xb + Zu + e \tag{1}$$

With y the vector of phenotypes measured as binary trait (1 for dead and 2 for survival), b the fixed effect vector of sire and dam origins (BOB, MOB, IFR) with its incidence matrix X , u the vector of additive genetic effects with its incidence matrix Z , following either a normal distribution $N(0, A\sigma_u^2)$ with A the pedigree-based relationship matrix (BLUP model) or a normal distribution $N(0, G\sigma_u^2)$ with G the genomic relationship matrix (GBLUP model, VanRaden (2008)). σ_u^2 is the additive genetic variance. e is the vector of residual errors, following a normal distribution $N(0, I\sigma_e^2)$ with mean zero, and σ_e^2 the residual variance.

Variance components were estimated using AIREMLF90 (Misztal et al., 2002), considering the observed binary phenotype as a continuous trait. Heritability on the observed scale for BLUP and GBLUP models was estimated by the ratio of the additive genetic variance σ_u^2 and total phenotypic variance $\sigma_p^2 = \sigma_u^2 + \sigma_e^2$. A transformation of this estimate on the observed scale was applied to estimate heritability on the underlying liability scale (Dempster and Lerner 1950).

2.7. Accuracy of selection

For both BLUP and GBLUP models, the prediction accuracy was estimated using 200 replicates of standard five-fold cross-validation sets (training population 80%, validation population 20%). Prediction accuracy was calculated as the correlation between the EBVs of the validation population and their phenotypes corrected for fixed effects, divided by the square root of the heritability estimated using the GBLUP model. EBVs accuracies values were compared between BLUP and GBLUP models for each condition.

2.8. GWAS and QTL detection

GWAS was performed to identify genomic regions involved in disease resistance. Genotype-phenotype association analyses were based on a Bayesian Sparse Linear Mixed Model (BSLMM) implemented in GEMMA (Zhou et al., 2013). This model allows partitioning the genetic variance into two components: a polygenic small effect for all SNPs and a QTL large effect for a limited set of SNPs.

$$\mathbf{y} = \mathbf{1}_n\mu + \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{u} + \boldsymbol{\varepsilon}$$

Where \mathbf{y} is a vector of phenotypes (corrected for the effect of parental origin), μ is a scalar representing the phenotype mean, \mathbf{X} is the matrix of genotypes; $\boldsymbol{\beta}$ is a vector of the SNP effects (coded as 0 and 2 for homozygotes and 1 for the heterozygote); \mathbf{u} is a vector of random additive genetic effects distributed according to $\mathbf{N}(\mathbf{0}, \mathbf{G}\sigma^2_b)$, with σ^2_b the additive polygenic variance and \mathbf{G} the genomic relationship matrix (for p SNPs); $\boldsymbol{\varepsilon}$ is a vector of residuals $\mathbf{N}(\mathbf{0}, \mathbf{I}\sigma^2_e)$, σ^2_e is the residual variance and \mathbf{I} the identity matrix.

Considering $\mathbf{G} = \mathbf{X}\mathbf{X}^T / p$, $\mathbf{u} = \mathbf{X}\boldsymbol{\alpha}$ can be viewed as the combined effect of all small effects of SNPs. The SNP effect sizes can be decomposed into two parts: $\boldsymbol{\alpha}$ that captures the small effects that all SNPs have, and $\boldsymbol{\beta}$ that captures the additional large effects of a subset of SNPs. The total effect size for a given SNP is $\gamma_i = \alpha_i + \beta_i$. The individual SNP effects γ_i are sampled from a mixture of two normal distributions, $\gamma_i \sim \pi \mathbf{N}(0, \sigma^2_a + \sigma^2_b) + (1 - \pi) \mathbf{N}(0, \sigma^2_b)$ where σ^2_a is the additional variance associated to large effects and π is the proportion of SNPs with large effects which are sampled in a limited number in-between 0 and 300 at each cycle of the MCMC algorithm.

A total of 4 million iterations were performed with a burn-in of 100,000 cycles and a record of one in every 20 cycles.

The degree of association between each SNP and phenotypes was assessed by the Bayes Factor (BF), as follow:

$$BF = \frac{\frac{PIP}{(1 - PIP)}}{\frac{\pi}{(1 - \pi)}}$$

where PIP is the posterior inclusion probability for each SNP defined as the proportion of cycles from the MCMC algorithm in which the SNP is classified as having a large effect. As proposed by Kass and Raftery (1995), the statistical criterion logBF was computed as twice the natural logarithm of the BF. The threshold logBF ≥ 6 was used for defining evidence for a putative QTL and logBF ≥ 8 for defining strong evidence for a true QTL. Manhattan plots were used to visualize results, setting all negative values of logBF to zero for the sake of a better visualization. As the SNP with the highest logBF may not always coincide to the one closest to an eventual causal mutation, a credibility interval was defined following the method described in (Michenet et al., 2016). All SNPs with a logBF ≥ 3 (greater than the noise detection threshold chosen for this dataset), were also included in the QTL region if they were within a sliding window of 1 Mb on either side of the peak SNP. QTL boundaries were defined by using this sliding window until no SNP had a logBF greater than 3 in it.

3. Results

3.1. Experimental infections survival

The cumulative survival rates for the three experimental infections are illustrated in Figure 1. At day 19 post-infection (*i.e.* before the second infection), the survival was 90% for *V. aestuarianus*, 56% for OsHV-1 and 53% for coinfection. After 61, 37 and 47 days of *V. aestuarianus*, OsHV-1 and coinfection challenges, the survival were 52%, 55% and 43%, respectively. For the bacterial challenge, survival decreased slowly from day 4 post-infection to day 21, reaching 90%, and then decreased regularly

until day 61. Survival decreased down to 60% during the first week post infection for the OsHV-1 challenge and then reached a plateau. A similar pattern was observed for the coinfection challenge, except that survival decreased slightly after the second infection until the end of the experiment. No mortality was observed in the control group throughout the entire experiment.

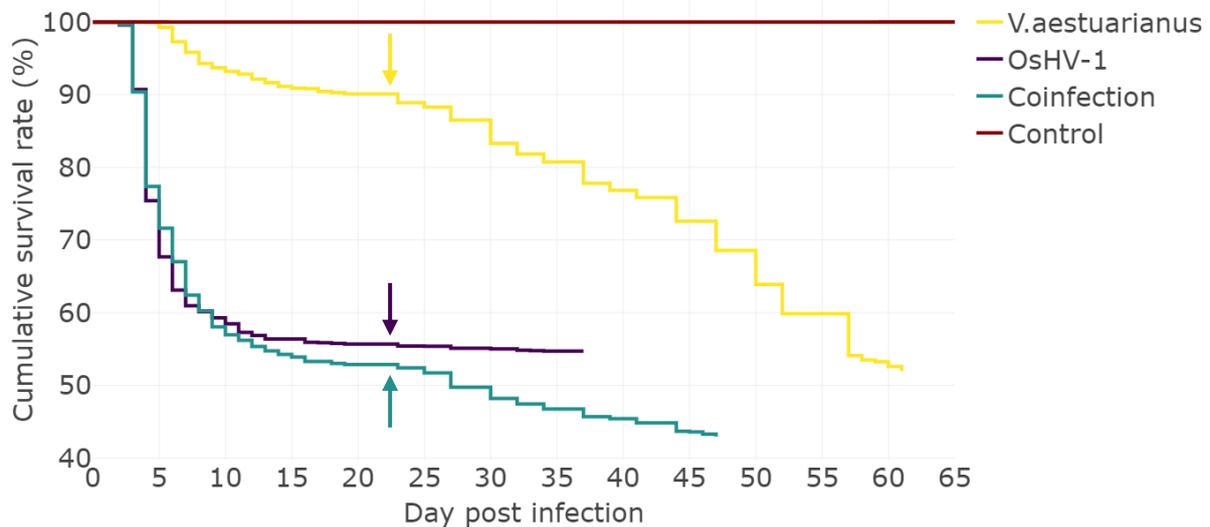


Figure 1 : Temporal evolution of the cumulative survival rates in the three experimental challenges and in the control condition. Arrows represents the day of the second infection (day 21 post first infection).

3.2. Parentage assignment

COLONY assigned 1,965 offspring to a pair of parents; 102 offspring were assigned to a reconstructed, *in silico* dam and four *in silico* sires matching the mating scheme with the missing MOB female. Similarly, 88 offspring were assigned to the missing BOB female, while 89 offspring were assigned to an *in silico* sire and four dams in agreement with the missing BOB male. Only one offspring failed to assign to a sire and was excluded from further analysis. A total of 2,244 offspring were assigned to 100 full sibling families (99.5% of all sampled offspring), with a family size ranging from 9 to 35 oysters, matching the initial mating design (Supplementary Figure 1).

3.3. Effect of the origin of parents on survival

Final survival of assigned oysters for each experimental infection according to the origin of their parents (regardless of sex) is shown in Figure 2. Survival to *V. aestuarianus* infection ranged from 41% for pure BOB families to 64% for pure IFR families with high variability among families regardless of the parental origin. Survival among groups varied from 2% to 94% for the coinfection and OsHV-1 challenges. The survival of offspring resulting from inter-origin crosses was roughly intermediate between pure origins under all conditions. Overall, oysters produced from BOB origin had the lowest survival whereas those produced from selected IFR origin had the highest survival. Finally, survival of the 100 families ranged from 0% to 100% for the three challenge conditions.

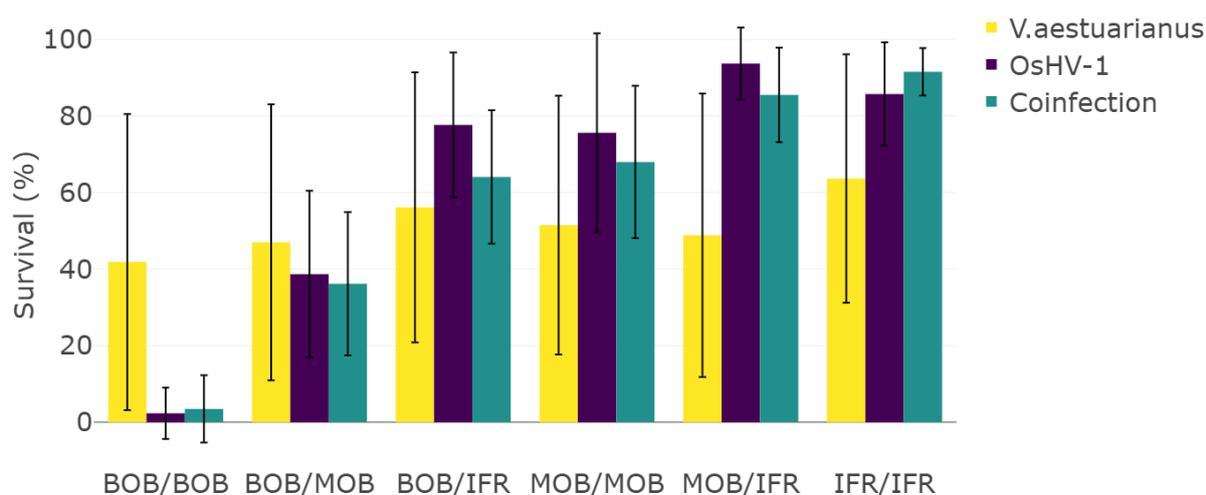


Figure 2 : Survival to the three different experimental infections of genotyped Pacific oyster according to the origin of parents. Error bars represent the standard deviation of the family survival. BOB: Bay of Brest; MOB: Marennes-Oléron Basin; IFR: Ifremer selected oysters

3.4. OsHV-1 and V. aestuarianus quantification

For OsHV-1 and coinfection conditions, the prevalence and the amount of viral DNA were higher in oysters as well as in the water compared to the *V. aestuarianus* and the control conditions (Table 2). The detailed quantifications are given in supplementary table 2. Regarding *V. aestuarianus*, its prevalence and detection were lower in OsHV-1 and control conditions (26% and 5%, respectively) than those detected in the bacterial and coinfection conditions. Bacterial DNA was detected in most of the water samples regardless the conditions, but the amount detected was much higher (10-20 times higher) in water samples of *V. aestuarianus* and coinfection conditions.

Table 2: Detection and quantification of OsHV-1 and *Vibrio aestuarianus* for moribund oysters in experimental infections with pathogen, for live oysters in the control condition, and the water samples. Quantification relates to mean of positive samples, in copies/ng of DNA for tissue and copies/ μ L for sea water. N is the number of samples.

| Sample type | Condition | OsHV-1 | | | <i>V. aestuarianus</i> | | | Co-detection | |
|-------------|------------------------|------------|----------------|-----------------------|------------------------|----------------|--------------------|--------------|----------------|
| | | Positive/N | Prevalence (%) | Quantification | Positive/N | Prevalence (%) | Quantification | Positive/N | Prevalence (%) |
| Tissue | OsHV-1 | 35/35 | 100 | 8.70×10^4 | 9/35 | 26 | 1.48×10^3 | 9/35 | 26 |
| | <i>V. aestuarianus</i> | 24/35 | 69 | 8.08×10^0 | 35/35 | 100 | 5.38×10^6 | 24/35 | 69 |
| | Coinfection | 43/45 | 96 | 1.01×10^5 | 40/45 | 89 | 9.33×10^5 | 38/45 | 84 |
| | Control | 5/20 | 25 | 3.81×10^{-2} | 1/20 | 5 | 6.74×10^0 | 0/20 | 0 |
| Water | OsHV-1 | 14/14 | 100 | 1.49×10^4 | 14/14 | 100 | 2.15×10^1 | 14/14 | 100 |
| | <i>V. aestuarianus</i> | 13/23 | 57 | 7.30×10^0 | 20/23 | 87 | 5.51×10^2 | 11/23 | 48 |
| | Coinfection | 20/20 | 100 | 1.84×10^3 | 20/20 | 100 | 4.64×10^2 | 20/20 | 100 |
| | Control | 10/12 | 83 | 7.67×10^0 | 12/12 | 100 | 4.59×10^1 | 10/12 | 83 |

3.5. Estimation of genetic parameters and genetic prediction accuracy

For *V. aestuarianus* infection, heritability estimated with the BLUP (pedigree) and GBLUP (genomic) models on the observed scale showed moderate values 0.25 ± 0.11 and 0.27 ± 0.11 (Table 3), corresponding to values of 0.39 and 0.42 on the underlying liability scale, respectively. For OsHV-1 infection, heritability based on pedigree was estimated at 0.17 ± 0.07 on the observed scale and 0.27

on the underlying liability scale, and the heritability based on the genomic matrix was estimated at 0.32 ± 0.07 on the observed scale and 0.50 on the underlying liability scale. For coinfection, moderate heritabilities were estimated with 0.13 ± 0.04 and 0.21 ± 0.05 on the observed scale, corresponding to 0.20 and 0.33 on the underlying liability scale for BLUP or GBLUP models, respectively.

Genetic correlations were similar between BLUP and GBLUP linear models (Table 3). Survival to *V. aestuarianus* challenge was not correlated to the survival of the OsHV-1 challenge (-0.09 ± 0.33), while a low and positive correlation (0.32 ± 0.33) was found between the bacterial challenge and coinfection with a high SE (Table 3). A strong and positive genetic correlation was found between survival to OsHV-1 and coinfection (0.94 ± 0.07).

Based on the five-fold cross validation, the prediction accuracy for survival of *C. gigas* exposed to *V. aestuarianus* were similar between the two models ($\approx 0.49 \pm 0.21$). In contrast, the genomic-based model outperformed the pedigree-based model for OsHV-1 and coinfection survival with 0.51 and 0.53 for GBLUP, versus 0.34 and 0.38 for BLUP, respectively.

Table 3: Estimates of genetic parameters and their standard errors on the observed scale for survival traits and accuracy of EBVs. Genetic correlation with the BLUP and GBLUP linear models are presented above and below the diagonal, respectively.

| | <i>V. aestuarianus</i> | OsHV-1 | Coinfection |
|------------------------|------------------------|--------------|-------------|
| HERITABILITY | | | |
| BLUP | 0.25 (0.11) | 0.17 (0.07) | 0.13 (0.04) |
| GBLUP | 0.27 (0.11) | 0.32 (0.07) | 0.21 (0.05) |
| CORRELATION | | | |
| <i>V. aestuarianus</i> | - | 0.009 (0.52) | 0.37 (0.47) |
| OsHV-1 | -0.09 (0.33) | - | 0.93 (0.35) |
| Coinfection | 0.32 (0.33) | 0.94 (0.07) | - |
| ACCURACY | | | |
| BLUP | 0.47 (0.20) | 0.34 (0.13) | 0.38 (0.11) |
| GBLUP | 0.49 (0.21) | 0.51 (0.13) | 0.53 (0.11) |

3.6. QTL detection

GWAS for *V. aestuarianus* survival did not reveal any QTL (Figure 3A), while 40% of the genetic variance could be explained by large-effect SNPs. For OsHV-1 infection, in total large-effect SNPs explained 37% of the genetic variance. Five regions were identified as putative QTLs ($\log_{10}BF > 6$), located on LGs 5, 6 and 7 (Table 4). For the coinfection, large-effect SNPs also explained 37% of the total genetic variance. Five QTLs were detected with stronger evidence than the ones identified for OsHV-1 ($\log_{10}BF > 8$). The comparison of QTL locations between OsHV-1 and coinfection challenges showed that SNPs with significant effects were found in the same window close to 4 Mb on LG 6. The QTL_1_C from 0,669,214 pb to 4,249,487 pb encompassed both the QTL_2_O from 1,160,136 pb to 1,680,910 pb and the QTL_3_O from 3,490,657 pb to 4,249,487 pb (Table 4). The other QTLs detected were specific to either OsHV-1 or coinfection challenges.

Table 4: List of QTL regions identified in the BSLMM analysis. PIP: posterior inclusion probability; LogBF: computed as twice the natural logarithm of the Bayes Factor

| Condition | ID QTL | LG | Peak SNP position (pb) | QTL start (pb) | QTL end (pb) | PIP | logBF |
|-------------|---------|----|------------------------|----------------|--------------|------|-------|
| OsHV-1 | QTL_1_O | 5 | 40,466,421 | 40,466,421 | 40,466,421 | 0.09 | 6.2 |
| OsHV-1 | QTL_2_O | 6 | 1,660,656 | 1,160,136 | 1,680,910 | 0.10 | 6.4 |
| OsHV-1 | QTL_3_O | 6 | 4,072,330 | 3,490,657 | 4,249,487 | 0.13 | 7.0 |
| OsHV-1 | QTL_4_O | 6 | 9,532,707 | 9,193,747 | 11,103,895 | 0.18 | 7.8 |
| OsHV-1 | QTL_5_O | 7 | 41,491,730 | 41,491,730 | 41,491,730 | 0.13 | 7.0 |
| Coinfection | QTL_1_C | 6 | 3,490,657 | 0,669,214 | 4,249,487 | 0.86 | 17.3 |
| Coinfection | QTL_2_C | 6 | 20,144,540 | 18,532,960 | 20,434,736 | 0.10 | 9.2 |
| Coinfection | QTL_3_C | 7 | 46,100,661 | 46,100,661 | 46,100,661 | 0.12 | 9.6 |
| Coinfection | QTL_4_C | 10 | 30,370,756 | 29,403,171 | 30,993,496 | 0.07 | 8.5 |
| Coinfection | QTL_5_C | 10 | 43,947,222 | 43,661,370 | 47,589,300 | 0.08 | 8.8 |

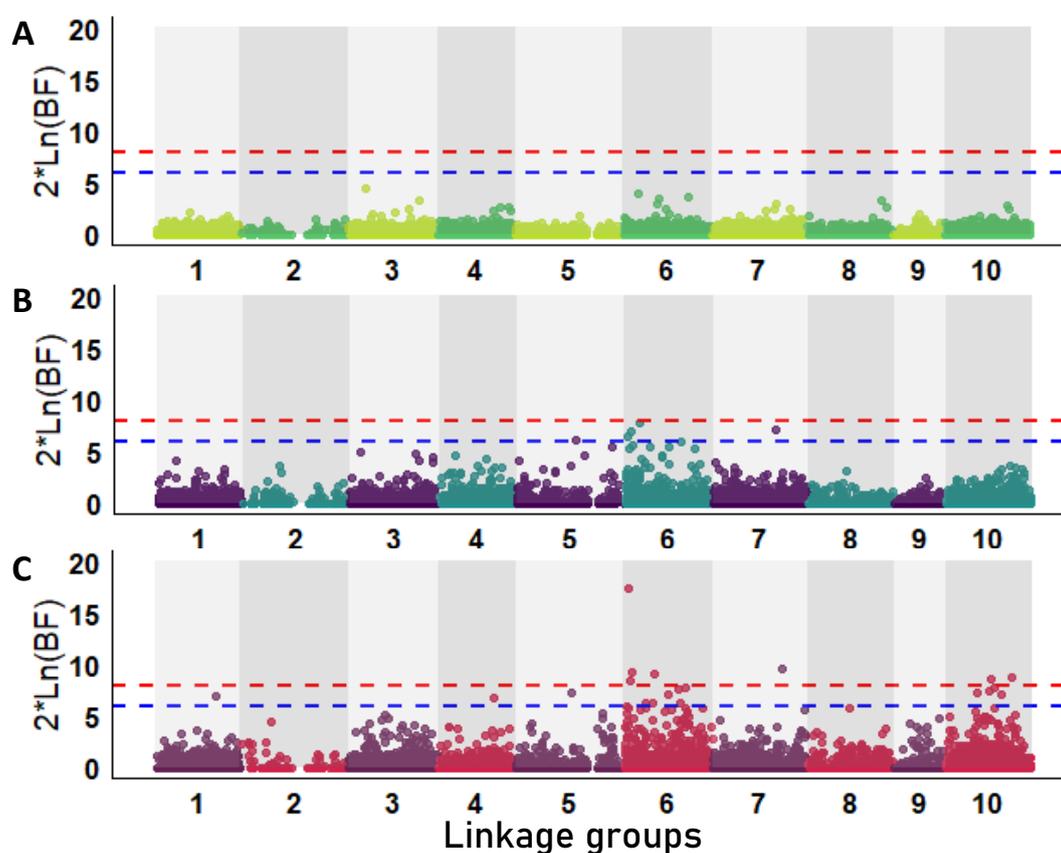


Figure 3 : Manhattan plot of BSLMM results for Pacific oyster resistance to *V. aestuarianus* (A), OsHV-1 (B) and Coinfection (C). Blue dashed line represent the threshold for putative QTL evidence and the red dashed line represent the threshold for QTL evidence.

Average survival rate of the genotypes of the two SNPs on LG 6 with the highest LogBF in OsHV-1 infection and the two SNPs on LG 6 in coinfection are shown on figures 4A and 4B, respectively. The first SNP detected in OsHV-1 condition, QTL_4_O, had a strong dominance-like effect on OsHV-1 resistance and a weak effect on coinfection resistance (Figure 4A₁). The second SNP detected, QTL_3_O had a very similar strong additive effect to both challenges (Figure 4A₂). A dominance-like effect for the two SNPs detected in the coinfection was found, with a favourable effect on survival for

the less frequent allele for the first SNP (Figure 4B₁) and, on the contrary, for the most frequent allele for the second SNP (Figure 4B₂). A χ^2 test was used to test the significance of the effect of each of these 4 QTLs on *V. aestuarianus* survival. Only the QTL_4_O had a significant effect on *V. aestuarianus* resistance with a p-value of 0.02.

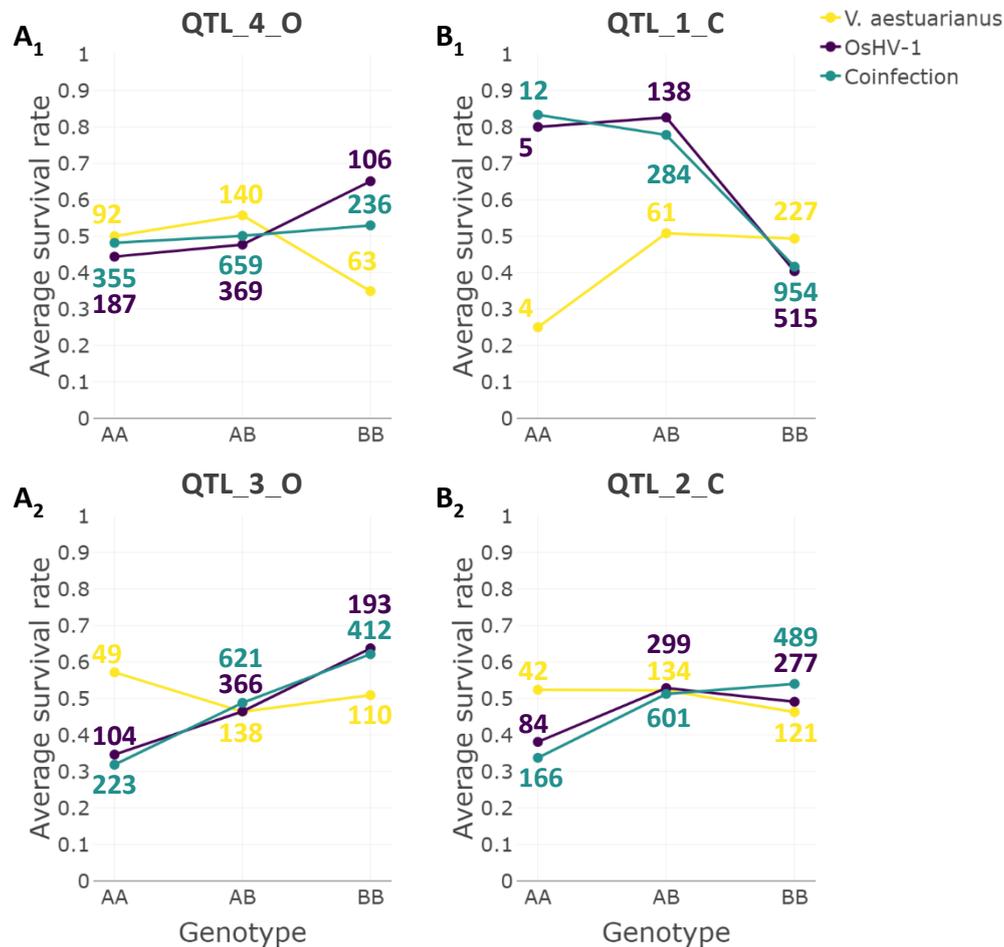


Figure 4 : Average survival rate for the two SNPs with higher logBF on LG 6 in OsHV-1 and coinfection conditions. Number of individuals are given for each genotype in each conditions. A: peak SNPs detected in OsHV-1 condition; B: peak SNPs detected in coinfection

4. Discussion

4.1. Reliabilities of pathogen challenges

Detection and more importantly quantification of viral and bacterial DNA in sea water and moribund oysters in each pathogen challenge strongly support that all experimental infections were effective, so that observed mortality was due to infection by these pathogens. Traces of OsHV-1 DNA were detected in oysters subjected to the bacterial challenge, as it was also detected traces of bacterial DNA for the viral challenge. OsHV-1 concentration in the *V. aestuarianus* challenge as well as *V. aestuarianus* concentration in OsHV-1 challenge were below known thresholds for their respective disease risk (Dégremont, 2013; Green et al., 2016; Oden et al., 2011). Similarly, traces of both pathogens were also detected in the live oysters and in the seawater of the control groups (Table 1) but no mortality was observed. Indeed, seawater used in our experimental infections was pumped from the Marennes-Oléron basin, where OsHV-1 and *V. aestuarianus* are naturally present. Thus, environmental pathogens must have been inactivated from the UV-treatment applied, as previously

observed (Azéma et al., 2017a, 2016) but the degraded DNA remained in the seawater and oyster tissue.

4.2. Kinetics of mortality

In the OsHV-1 condition, mortality started within a week post-infection with an early and sharp onset and lasted around one week (Figure 1) closely resemble those previously described for the herpes disease in field condition (Dégremont, 2011), laboratory condition (Dégremont et al., 2010b) and under experimental infection (Segarra et al., 2014). To our knowledge, this is the first experimental infection using two successive OsHV-1 challenges. The second exposition to oysters injected with the virus did not trigger a second mortality outbreak for the survivors supporting that most of susceptible oysters to the virus died during the primary exposition. Such observations are common in field condition for mortality related to this virus, with a peak of mortality during the first year and then lower mortality during the second year (Azéma et al., 2017b; Dégremont et al., 2020). For *V. aestuarianus*, mortality dynamics is much more dependent on environmental and zootechnical parameters (Lupo et al., 2019). In our study, we observed a slow and chronic mortality which was higher after the second exposition of the survivors with a new batch of injected oysters by the bacteria. This might be related to our strategy of daily removing the dying oysters from day 1 to day 21 post infection and then three times per week from day 22 post infection until the end of the experiment. Moreover, experimental transmission trials revealed that once infected, an oyster became infectious four days post exposure for only one day before dying of vibriosis, and that *V. aestuarianus* remained in seawater for 2 days on average (Lupo et al., 2019), our strategy might have increased the bacterial load in the seawater, and thus increased the yields chance of getting infected.

The coinfection mortality dynamics closely mimicked the mortality observed with the OsHV-1 condition, though displaying some chronic mortality after the initial peak. A possible hypothesis could be that OsHV-1 first induced early mortalities followed by *V. aestuarianus*-induced mortalities, suggesting that both diseases occurred in succession and that limited interaction between pathogens occurred opposing what de Lorgeril et al. (2020, 2018) have shown with an indirect interaction between OsHV-1 and another *Vibrio* species (*V. crassostreae*). Previous studies have shown a similar increase in mortality with an injected mixture of different *Vibrio* strains (Gay et al., 2004) or with a similar experimental infection (Azéma et al., 2016). According to Azéma et al. (2016), even oysters selected for their increased resistance to OsHV-1 could suffer from high mortality rates if exposed to both pathogens, particularly among spat/juveniles aged 8 to 16 months and weighing between 4 and 18g. However, a more in depth mechanistic analysis would be required to characterize the nature and presence of interaction between the two pathogens.

The relatively small weight of challenged oysters could also be a factor in the observed mortality dynamics. Previous research has shown that susceptibility to OsHV-1 decrease with weight, while the opposite was observed for *V. aestuarianus* (Azéma et al., 2017a). A coinfection protocol for both diseases thus requires finding an appropriate weight at which both can occur. Azéma et al. (2017) estimated mortalities of >40% for an OsHV-1 infection and >50% for a *V. aestuarianus* infection at around 15-20g, making it suitable for a target weight used in our experimental infections. However, it is neither the weight at which OsHV-1 is most prevalent nor the weight at which *V. aestuarianus* is most problematic. To conduct coinfection studies on diseases with opposite susceptibilities depending on weight, a trade-off had to be made and the most judicious choice seemed to be for this weight of 15-20g according to the results of Azéma et al. (2017a, 2016).

4.3. Parental origin

Life-history of the parents can have an influence on disease resistance of their offspring in the wild, in particular for heritable traits. Selected stock of eastern oysters *Crassostrea virginica* for resistance to dermo, caused by *Perkinsus marinus* showed lower mortality than the unselected stocks (Casas et al., 2017). Similarly, higher survival rate against OsHV-1 has been shown in *C. gigas* in a mass selection

experiment (Dégremont et al., 2015b) or from oysters recruited in farming areas compared to those recruited in non-farming areas (de Lorgeril et al., 2020). Our results, obtained when oysters were exposed to OsHV-1, are in agreement with these studies with very low survival for the BOB group (2%), sampled in a non-farming area, and a much higher survival for the IFR group (85%), and in a lesser extent for the MOB group (76%) sampled in a site with large populations of both cultured and wild oysters (Figure 2). Even if the role of genetics in OsHV-1 resistance is well established, de Lorgeril et al. (2020) have reported a difference in expression that could be controlled by epigenetic mechanisms. A recent study showed that about 34% of the phenotypic variance in OsHV-1 resistance was explained by the interaction between genetic and epigenetic variations, about 20% by epigenetic variation alone and only about 13% by genetic variation alone suggesting that populations undergoing strong pathogen selection pressure exhibit both genetic and epigenetic variations during rapid adaptation (Gawra et al., 2023). Thus, in our study, natural microbial exposure experienced in the field may have facilitated development of disease resistance in the oyster population sampled in farming areas.

Although it is not surprising to observe the highest survival for the IFR group, there are several possible explanations for the higher survival of MOB oysters in comparison to the BOB oysters. Firstly, natural selection may have occurred in the field and the population improved disease resistance over generations. It is assumed that non-farming areas experience lower infectious pressure, and so less natural selection (Alfaro et al., 2019). Previous studies have demonstrated high heritability for resistance to OsHV-1 in several oyster populations (Azéma et al., 2017; Camara et al., 2017; Dégremont et al., 2015a; Divilov et al., 2021). Therefore, it is expected that wild oysters in regions where OsHV-1 related mortality is regularly observed, such as the Marennes-Oléron Bay – Europe's largest shellfish area with large populations of wild and cultivated *C. gigas* (Gouilletquer and Le Moine, 2002) – would exhibit a higher level of resistance. Previous studies using wild oysters sampled in MOB from 2009 to 2013 showed low survival (<20%) (Dégremont et al., 2015b, 2015a) while survival went to 76% in our study with oysters sampled in 2020. This suggests that there may be an increase in resistance to OsHV-1 in the MOB population. Factors such as overlapping generations, sweepstakes reproductive success (Hedgecock and Pudovkin, 2011) and/or the importation/migration of wild spat from less selective areas could contribute to limit and/or dilute the genetic progress. Meanwhile, previous population genetic studies on wild oysters along the French coastline did not detect any strong differentiation supporting our results obtained with limited data (Supplementary Figure 2) (Lapègue et al., 2020; Meistertzheim et al., 2013). Either selection is acting on a very narrow set of genes that we did not detect here, or the selection pressure is insufficient to change the structure from one generation to another.

Nevertheless, an explanation of better survival of MOB oysters implying that substantial genetic improvement is spreading from hatchery-produced oysters to wild oysters may be refuted. Indeed, most French hatcheries produce triploids which are mostly sterile (Botta et al., 2020). The diploid hatchery production is hardly comparable to the massive natural oyster beds (Schmidt et al., 2008; Wrange et al., 2010), and the lack of differentiation between the farmed and non-farmed area supports the limited influence of hatchery-spread genetic material.

The IFR broodstock exhibits substantial differentiation from both wild populations across the entire genome (Supplementary Figure 2). This can be attributed to a founder effect, which arose from the use of only 6 individuals two generations ago, leading to genetic drift within the experimental selection program with limited genetic diversity.

4.4. Genetic parameters

Heritability of resistance to OsHV-1 has been well documented at different life stages in *C. gigas* (0.17-0.63) (Azéma et al., 2017a; Camara et al., 2017; Dégremont et al., 2015a; Divilov et al., 2021; Gutierrez et al., 2020, 2018). Our results at the juvenile stage for an experimental challenge (0.27-0.50) were in the range of those estimates. For *V. aestuarianus* infection, heritability estimates ranged from 0.09 to 0.33 from spat to adult under experimental infections (Azéma et al. 2017). Dégremont et al. (2020)

found moderate (0.30) to high (0.47) realized heritability for selected lines deployed in field conditions until market size. In our study, we estimated similar values with 0.39 using a pedigree-based model and 0.42 using genomic information. Heritability for diverse *Vibrio* species resistance was estimated to be either moderate as for *V. harveyi* (0.25) and *V. alginoliticus* (0.13-0.26) infections, or high as for *V. coralliilyticus* infection (0.54) in various shellfish species and environments (Dietrich et al., 2022; Nordio et al., 2021; Zhai et al., 2021). Genotyping only individuals with extreme phenotypes (the first moribunds and the last survivors), can lead to an overestimation of heritability, but is a powerful approach for detecting QTLs at a lower genotyping cost (Muranty and Goffinet, 1997; Xing and Xing, 2009).

Regarding the genetic correlation between resistance to OsHV-1 and resistance to *V. aestuarianus*, our results (-0.09 ± 0.33) confirmed the absence of genetic correlation previously reported in *C. gigas* (-0.02 ± 0.39) (Azéma et al., 2017a). Selecting for both pathogens at the same time is thus possible, at the cost of lowering genetic gain for each resistance, compared to single-phenotype selection. However, interaction between the two pathogens have been documented and may not be considered with independent selection thresholds for these two traits. The two pathogens are regularly detected together during on-site mortality events in France (Azéma et al., 2017b; Dégrement et al., 2020, 2019). Thus exploring coinfection to improve resistance in *C. gigas* is clearly relevant, as oysters could experience dramatic mortality rates (>70%), even in oysters selected for their higher resistance to OsHV-1 (Azéma et al., 2016).

One of the main novel results of our study is the estimation of genetic parameters for oysters exposed to both pathogens using dual controlled infection. Similar to heritability estimates for the herpes virus resistance, moderate heritability (0.20-0.33) was estimated for coinfection to the virus and the bacteria, indicating genetic variance potentially suitable for the design and implementation of a breeding program in sites where the two pathogens are naturally present. Strong genetic correlation was found between resistance to OsHV-1 and resistance to coinfection suggesting that resistance to coinfection was mainly driven by resistance to the virus, or that *V. aestuarianus* had limited impact on genotyped oyster survival in our experimental conditions. However, there could be a sampling bias in the estimate. In the coinfection experiment, all genotyped moribunds were sampled from day 4 to day 14, which were days more likely related to mortality due to the virus (Figure 1), and thus, favouring an overrepresentation of animals susceptible to the virus. Moreover, the weight of challenged oysters, as mentioned earlier, was a trade-off between the relevant weights associated to the two diseases in order to differentiate between the resistant and the susceptible individuals. It is possible that this size was actually more advantageous for infection by the virus. Despite these possible limitations, a strong genetic correlation between coinfection and OsHV-1 could also be expected. de Lorgeril et al. (2020, 2018) showed that OsHV-1 induced an immune-compromised state leading to a fatal bacteraemia. Thus, in our study the mortality in the OsHV-1 infection could be triggered by an opportunistic bacteria, different of *V. aestuarianus*. In that case, our OsHV-1 challenge could actually be considered as a coinfection trial too. This could explain the very high genetic correlation observed between the OsHV-1 condition and the coinfection condition. However, de Lorgeril et al. (2018) demonstrated that oysters exposed to OsHV-1 only, with limited bacteria growth using antibiotics, still experienced reduced but significant mortality. In any case, the strong genetic correlation reveals the strong involvement of the virus in the early days of a mortality event by coinfection.

The weak genetic correlation between coinfection and *V. aestuarianus* conditions could also be biased and explained by the previous sampling strategy and the animal size hypotheses. Standard errors of genetic correlations were high due to the limited number of samples. No strong conclusion can be made from *V. aestuarianus* condition, even if the slightly higher genetic correlation between *V. aestuarianus* and coinfection than between *V. aestuarianus* and OsHV-1 seems to indicate that *V. aestuarianus* may partly be involved in coinfection mortality.

4.5. Genomic architecture

Genome-wide association studies quality is dependent on SNP coverage on the genome and linkage disequilibrium with putative causal genes (Uffelmann et al., 2021). The oyster SNP array used in this study has limited number and quality of SNPs (Jourdan et al., 2023), and the oyster genome displays a very low level of linkage disequilibrium. Despite these unfavourable conditions, GWAS analyses in this study constitute an additional step towards exploring genetic architecture of disease resistance in *C. gigas* in particular for dual exposition to the two main pathogens affecting the European oyster production.

Results from GWAS showed no significant association between any SNP and *V. aestuarianus* resistance suggesting that survival against *V. aestuarianus* is very polygenic in *C. gigas*. However, one of the detected QTL in another condition (QTL_4_O in OsHV-1 condition) had a significant but opposite effect on resistance to *V. aestuarianus*. Only 12K SNPs combined to a very limited number of samples genotyped for the *V. aestuarianus* condition could have limited the statistical power for detecting small QTLs with GWAS. Furthermore, Azéma et al. (2015) showed that oysters surviving disease challenges seem not phenotypically more resistant, but rather more or less resilient or susceptible to this disease. Indeed, survival of individuals following an initial infection does not guarantee their survival in subsequent infections especially since there is a negative correlation between size and the level of resistance to this pathogen (Azéma et al., 2017a). To gain a deeper understanding of the genetic architecture underlying this trait, additional challenges must be conducted at different life stages.

Polygenic architecture was also demonstrated for OsHV-1 resistance (Gutierrez et al., 2018; Gutierrez et al., 2020) although one QTL was detected on LG 6. Our results also showed suggestive QTLs for the resistance to OsHV-1 with three QTLs on LG 6, and two other QTLs on LGs 5 and 7 (Table 4; Figure 3). For the coinfection, there was a strong statistical evidence for five QTLs. Interestingly, the credible interval for the coinfection of QTL_1_C located on LG 6 contains two of the three putative QTLs for OsHV-1 resistance, suggesting common candidate genes for both experimental infections. This results reinforce the hypothesis previously stated, that OsHV-1 could be the main driver of mortality in our coinfection experiment.

Not surprisingly, the credibility intervals associated with the QTLs were large in most cases, making it difficult to identify potential underlying candidate genes. However, possible underlying genes could be identified in the QTLs credible intervals using the oyster reference genome (cgigas_uk_roslin_v1 (Penaloza et al., 2022)). de Lorgeril et al. (2020) identified genes related to nuclear factor kappa B that could explain a better survival to Pacific oyster mortality syndrome (POMS). In our study, the gene inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit alpha was annotated in the QTL_4_C on LG 10. In de Lorgeril et al. (2020) a tumor necrosis factor (TNF) receptor was differentially expressed in a resistant family. In our study, a TNF receptor was annotated in our common QTL region between OsHV-1 and coinfection, near the peak SNP in QTL_3_O and QTL_1_C on LG 6. In this region, genes encoding caspase-3 were also found, as well as in the QTL_5_C interval on LG 10. This protein was previously identified using transcriptomic analysis in a rapid antiviral response of susceptible and resistant families to POMS (de Lorgeril et al., 2018). A recent study (Divilov et al., 2023) identified IRF2 and Viperin as two genes involved in OsHV-1 resistance in Tomales bay (USA), but those genes were not found in any of our QTL regions.

The genes mentioned in our study, especially those in the common QTLs (TNF and Caspase-3) could be good candidates for further functional validation. Additionally, these QTLs may have practical applications in oyster breeding programs to increase resistance to OsHV-1 or coinfection. However, the implementation of efficient marker assisted selection requires identifying the causal variant(s) or very tightly linked loci, which is harder with very large QTL regions as defined here. Nevertheless, mean survival for each genotype at the peak SNPs was improved by 10-40%, with some SNPs having a similar effect on both OsHV-1 and coinfection (Figure 4). No effect of those QTLs, except QTL_4_O,

could be observed on *V. aestuarianus* resistance. A validation step of the QTLs on commercial breeding populations would be necessary before application.

The development of a new high density SNP array as recently developed for another oyster species *C. virginica* (Guo et al., 2023) could be a valuable tool to improve our analysis, by refining credible intervals of QTLs, and possibly identifying new ones on poorly covered genomic regions. Similarly, increasing the number of genotyped oysters, in particular for the *V. aestuarianus* condition, as well as genotyped moribund oysters after day 14 post-infection for the dual exposition might improve QTL detection for the resistance to the bacteria.

4.6. Breeding value accuracies

Subject to a reference population of appropriate size and close enough to the candidates for selection, the accuracy of breeding value predictions for resistance to disease is expected to be higher when using genomic information (GBLUP) compared to pedigree information (BLUP) (see for review: Yáñez et al., 2022). Results showed a gain in EBV accuracies of 4%, 50% and 42% for resistance to *V. aestuarianus*, OsHV-1 and coinfection respectively. In our study, parents came from different genetically structured populations resulting in structured offspring population used for phenotyping (Supplementary Figure 2). Previous studies have shown that in cross-validation, distant training and validation populations are associated with low prediction accuracy (D'Ambrosio et al., 2020; Fraslin et al., 2022; Palaiokostas et al., 2019). In order to account for the possibility of structure by random sampling between training and validation set, a high number of cross validation was done (200 reps), but relatively high variance between repetitions could be expected.

This is the first time that the accuracy of (G)EBV prediction for *V. aestuarianus* and coinfection resistance in oysters has been estimated. The limited increase in accuracy using genomic information for *V. aestuarianus* GEBVs could be explained by the low number of genotyped individuals in the reference population (238), potentially leading to an incomplete representation of the genetic diversity present in the candidate population. A similar observation can be made for OsHV-1. Gutierrez et al. (2020) obtained with the same SNP array a better accuracy of GEBVs (0.76) compared to our results (0.51). They employed a smaller number of families (31), while maintaining a comparable quantity of genotyped animals in their reference population (≈ 570 vs ≈ 530 in our study). Notably, these individuals were more closely related genetically to the validation population due to their origin from an ongoing selection program. Even if our breeding design favoured genetic link between families, prediction accuracy must be higher by capturing all genetic variability. *V. aestuarianus* and OsHV-1 EBV accuracies could be increased by genotyping more individuals.

An increase in EBV accuracy for OsHV-1 and coinfection is nevertheless observed when using genomic information. With SNP data, a more accurate relatedness between individuals is taken into account in EBV calculation. Genomic selection thus appear suitable for breeding programs for both infections.

5. Conclusions

The results from our study indicate that heritability of resistance to single or dual infection with OsHV-1 and *V. aestuarianus* in oysters was low to moderate but significant. The implementation of selective breeding and genomic selection programs is therefore possible and would be effective. The coinfection challenge should be considered for breeding programs as it should be more closely related to field disease exposure where both pathogens are naturally presents. Genetic correlation between the coinfection challenge and field testing should be evaluated to validate this hypothesis. In our protocol, coinfection followed closely OsHV-1 infection, but should also be evaluated at younger and older life stages, and/or with other pathogens that are known to induce mortality outbreaks in *C. gigas* either in the field or in experimental/commercial hatcheries. The GWAS identified several markers showing a significant association with OsHV-1 and coinfection infection with the most encouraging QTLs located on LG 6. In the future, the identified candidate genes from the GWAS could be further

analysed, with independent and/or commercial populations being used to confirm the association of trait-associated SNPs.

Acknowledgements

This work was funded by the European Commission through the project New Technologies, Tools and Strategies for a Sustainable, Resilient and Innovative European Aquaculture (NewTechAqua), under grant agreement ID: 862658 from Horizon 2020 programme. Part of the PhD scholarship was funded by the Association National Recherche Technologie (ANRT, N°2019/1511). We would like to express our gratitude to Anna Sonesson who, as work-package leader, made herself accessible to us and gave us valuable advice. We acknowledge the staff of the INRAE platform GENTYANE for their genotyping expertise and those of the Pôle de Calcul et de Données Marines (PCDM) for providing DATARMOR data access and computational resources. Oyster used in this work were produced and maintained under controlled conditions at the technical facilities of the nursery of the Marine Molluscs platform of Ifremer Bouin and of Ifremer La Tremblade. We are very grateful to the hatchery and genetic teams for assistance in oyster production and to the pathology team for technical support for mortality monitoring. Finally, we would like to thank Florent Marquis, who was involved in all stages of production and experimentation throughout the project, and Bruno Petton, for sampling the wild oysters from BOB used in this study.

References

- Azéma, P., Lamy, J.-B., Boudry, P., Renault, T., Travers, M.-A., Dégremon, L., 2017a. Genetic parameters of resistance to *Vibrio aestuarianus*, and OsHV-1 infections in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, at three different life stages. *Genet Sel Evol* 49, 23. <https://doi.org/10.1186/s12711-017-0297-2>
- Azéma, P., Maurouard, E., Lamy, J.-B., Dégremon, L., 2017b. The use of size and growing height to improve *Crassostrea gigas* farming and breeding techniques against OsHV-1. *Aquaculture* 471, 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.01.011>
- Azéma, P., Travers, M.-A., Benabdelmouna, A., Dégremon, L., 2016. Single or dual experimental infections with *Vibrio aestuarianus* and OsHV-1 in diploid and triploid *Crassostrea gigas* at the spat, juvenile and adult stages. *Journal of Invertebrate Pathology* 139, 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.08.002>
- Azéma, P., Travers, M.-A., De Lorgeril, J., Tourbiez, D., Dégremon, L., 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. *Veterinary Research* 46, 139. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0282-0>
- Boudry, P., Allal, F., Aslam, M.L., Bargelloni, L., Bean, T.P., Brard-Fudulea, S., Briec, M.S.O., Calboli, F.C.F., Gilbey, J., Haffray, P., Lamy, J.-B., Morvezen, R., Purcell, C., Prodöhl, P.A., Vandeputte, M., Waldbieser, G.C., Sonesson, A.K., Houston, R.D., 2021. Current status and potential of genomic selection to improve selective breeding in the main aquaculture species of International Council for the Exploration of the Sea (ICES) member countries. *Aquaculture Reports* 20, 100700. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100700>
- Brogden, K.A., Guthmiller, J.M., Taylor, C.E., 2005. Human polymicrobial infections. *The Lancet* 365, 253–255. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)17745-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17745-9)
- Camara, M.D., Yen, S., Kaspar, H.F., Kesarcodi-Watson, A., King, N., Jeffs, A.G., Tremblay, L.A., 2017. Assessment of heat shock and laboratory virus challenges to selectively breed for ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) resistance in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 469, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.11.031>
- Cox, F.E.G., 2001. Concomitant infections, parasites and immune responses. *Parasitology* 122, S23–S38. <https://doi.org/10.1017/S003118200001698X>
- D'Ambrosio, J., Morvezen, R., Brard-Fudulea, S., Bestin, A., Acin Perez, A., Guéméné, D., Poncet, C., Haffray, P., Dupont-Nivet, M., Phocas, F., 2020. Genetic architecture and genomic selection of female reproduction traits in rainbow trout. *BMC Genomics* 21, 558. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06955-7>
- de Lorgeril, J., Lucasson, A., Petton, B., Toulza, E., Montagnani, C., Clerissi, C., Vidal-Dupiol, J., Chaparro, C., Galinier, R., Escoubas, J.-M., Haffner, P., Dégremon, L., Charrière, G.M., Lafont, M., Delort, A., Vergnes, A., Chiarello, M., Fauray, N., Rubio, T., Leroy, M.A., Pérignon, A., Régler, D., Morga, B., Alunno-Bruscia, M., Boudry, P., Le Roux, F., Destoumieux-Garzón, D., Gueguen, Y., Mitta, G., 2018. Immune-suppression by OsHV-1 viral infection causes fatal bacteraemia in Pacific oysters. *Nat Commun* 9, 4215. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06659-3>
- de Lorgeril, J., Petton, B., Lucasson, A., Perez, V., Stenger, P.-L., Dégremon, L., Montagnani, C., Escoubas, J.-M., Haffner, P., Allienne, J.-F., Leroy, M., Lagarde, F., Vidal-Dupiol, J., Gueguen, Y., Mitta, G., 2020. Differential basal expression of immune genes confers *Crassostrea gigas* resistance to Pacific oyster mortality syndrome. *BMC Genomics* 21, 63. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6471-x>
- Dégremon, L., 2013. Size and genotype affect resistance to mortality caused by OsHV-1 in *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 416–417, 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.011>

- Dégremont, L., 2011. Evidence of herpesvirus (OsHV-1) resistance in juvenile *Crassostrea gigas* selected for high resistance to the summer mortality phenomenon. *Aquaculture* 317, 94–98. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.04.029>
- Dégremont, L., Azéma, P., Maurouard, E., Travers, M.-A., 2020. Enhancing resistance to *Vibrio aestuarianus* in *Crassostrea gigas* by selection. *Aquaculture* 526, 735429. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735429>
- Dégremont, L., Boudry, P., Ropert, M., Samain, J.-F., Bédier, E., Soletchnik, P., 2010a. Effects of age and environment on survival of summer mortality by two selected groups of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 299, 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.12.009>
- Dégremont, L., Garcia, C., Allen, S.K., 2015a. Genetic improvement for disease resistance in oysters: A review. *Journal of Invertebrate Pathology, Pathogens and Disease Processes in Marine Molluscs* 131, 226–241. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.05.010>
- Dégremont, L., Garcia, C., Frank-Lawale, A., Allen, S.K., 2012. Triploid Oysters in the Chesapeake Bay: Comparison of Diploid and Triploid *Crassostrea virginica*. *shre* 31, 21–31. <https://doi.org/10.2983/035.031.0103>
- Dégremont, L., Maurouard, E., Ledu, C., Benabdelmouna, A., 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.014>
- Dégremont, L., Morga, B., Maurouard, E., Travers, M.-A., 2021. Susceptibility variation to the main pathogens of *Crassostrea gigas* at the larval, spat and juvenile stages using unselected and selected oysters to OsHV-1 and/or *V. aestuarianus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 183, 107601. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107601>
- Dégremont, L., Nourry, M., Maurouard, E., 2015b. Mass selection for survival and resistance to OsHV-1 infection in *Crassostrea gigas* spat in field conditions: response to selection after four generations. *Aquaculture* 446, 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.04.029>
- Dégremont, L., Soletchnik, P., Boudry, P., 2010b. Summer Mortality of Selected Juvenile Pacific Oyster *Crassostrea gigas* Under Laboratory Conditions and in Comparison with Field Performance. *shre* 29, 847–856. <https://doi.org/10.2983/035.029.0419>
- Delisle, L., Laroche, O., Hilton, Z., Burguin, J.-F., Rolton, A., Berry, J., Pochon, X., Boudry, P., Vignier, J., 2022. Understanding the dynamic of POMS infection and the role of microbiota composition in the survival of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*. (preprint). In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1636731/v1>
- Dempster, E.R., Lerner, I.M., 1950. Heritability of Threshold Characters. *Genetics* 35, 212–236.
- Dietrich, J.P., Hicks, M.B.R., Hard, J.J., Nichols, K.M., Langdon, C.J., Divilov, K., Schoolfield, B., Arkoosh, M.R., 2022. Heritability estimates of disease resistance to *Vibrio coralliitcticus* in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) larvae from a selective broodstock program. *Aquaculture* 560, 738492. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738492>
- Divilov, K., Merz, N., Schoolfield, B., Green, T.J., Langdon, C., 2023. Marker-assisted selection in a Pacific oyster population for an antiviral QTL conferring increased survival to OsHV-1 mortality events in Tomales Bay. *Aquaculture* 567, 739291. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739291>
- Divilov, K., Schoolfield, B., Mancilla Cortez, D., Wang, X., Fleener, G.B., Jin, L., Dumbauld, B.R., Langdon, C., 2021. Genetic improvement of survival in Pacific oysters to the Tomales Bay strain of OsHV-1 over two cycles of selection. *Aquaculture* 543, 737020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737020>
- Dove, M.C., Nell, J.A., O'Connor, W.A., 2013. Evaluation of the progeny of the fourth-generation Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850) breeding lines for resistance to QX disease (*Marteilia sydneyi*) and winter mortality (*Bonamia roughleyi*). *Aquaculture Research* 44, 1791–1800. <https://doi.org/10.1111/are.12012>

- Fraslin, C., Yáñez, J.M., Robledo, D., Houston, R.D., 2022. The impact of genetic relationship between training and validation populations on genomic prediction accuracy in Atlantic salmon. *Aquaculture Reports* 23, 101033. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101033>
- Gay, M., Berthe, F.C.J., Roux, F.L., 2004. Screening of *Vibrio* isolates to develop an experimental infection model in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Diseases of Aquatic Organisms* 59, 49–56. <https://doi.org/10.3354/dao059049>
- Green, T.J., Vergnes, A., Montagnani, C., de Lorgeril, J., 2016. Distinct immune responses of juvenile and adult oysters (*Crassostrea gigas*) to viral and bacterial infections. *Veterinary Research* 47, 72. <https://doi.org/10.1186/s13567-016-0356-7>
- Guo, X., Puritz, J.B., Wang, Z., Proestou, D., Allen, S., Small, J., Verbyla, K., Zhao, H., Haggard, J., Chriss, N., Zeng, D., Lundgren, K., Allam, B., Bushek, D., Gomez-Chiarri, M., Hare, M., Hollenbeck, C., La Peyre, J., Liu, M., Lotterhos, K.E., Plough, L., Rawson, P., Rikard, S., Saillant, E., Varney, R., Wikfors, G., Wilbur, A., 2023. Development and Evaluation of High-Density SNP Arrays for the Eastern Oyster *Crassostrea virginica*. *Mar Biotechnol.* <https://doi.org/10.1007/s10126-022-10191-3>
- Gutierrez, A.P., Bean, T.P., Hooper, C., Stenton, C.A., Sanders, M.B., Paley, R.K., Rastas, P., Bryrom, M., Matika, O., Houston, R.D., 2018. A Genome-Wide Association Study for Host Resistance to Ostreid Herpesvirus in Pacific Oysters (*Crassostrea gigas*). *G3 Genes|Genomes|Genetics* 8, 1273–1280. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200113>
- Gutierrez, A.P., Symonds, J., King, N., Steiner, K., Bean, T.P., Houston, R.D., 2020. Potential of genomic selection for improvement of resistance to ostreid herpesvirus in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Animal Genetics* 51, 249–257. <https://doi.org/10.1111/age.12909>
- Gutierrez, A.P., Turner, F., Gharbi, K., Talbot, R., Lowe, N.R., Peñaloza, C., McCullough, M., Prodöhl, P.A., Bean, T.P., Houston, R.D., 2017. Development of a Medium Density Combined-Species SNP Array for Pacific and European Oysters (*Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*). *G3 Genes|Genomes|Genetics* 7, 2209–2218. <https://doi.org/10.1534/g3.117.041780>
- Hedgecock, D., Pudovkin, A.I., 2011. Sweepstakes Reproductive Success in Highly Fecund Marine Fish and Shellfish: A Review and Commentary. *Bulletin of Marine Science* 87, 971–1002. <https://doi.org/10.5343/bms.2010.1051>
- Hollenbeck, C.M., Johnston, I.A., 2018. Genomic Tools and Selective Breeding in Molluscs. *Frontiers in Genetics* 9.
- Jourdan, A., Morvezen, R., Enez, F., Haffray, P., Lange, A., Vétois, E., Allal, F., Phocas, F., Bugeon, J., Dégremont, L., Boudry, P., 2023. Potential of genomic selection for growth, meat content and colour traits in mixed-family breeding designs for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 576, 739878. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739878>
- Kass, R.E., Raftery, A.E., 1995. Bayes Factors. *Journal of the American Statistical Association* 90, 773–795. <https://doi.org/10.1080/01621459.1995.10476572>
- Kotob, M.H., Menanteau-Ledouble, S., Kumar, G., Abdelzaher, M., El-Matbouli, M., 2016. The impact of co-infections on fish: a review. *Vet Res* 47, 98. <https://doi.org/10.1186/s13567-016-0383-4>
- Krkošek, M., 2010. Host density thresholds and disease control for fisheries and aquaculture. *Aquaculture Environment Interactions* 1, 21–32. <https://doi.org/10.3354/aei0004>
- Lhorente, J.P., Gallardo, J.A., Villanueva, B., Carabaño, M.J., Neira, R., 2014. Disease Resistance in Atlantic Salmon (*Salmo salar*): Coinfection of the Intracellular Bacterial Pathogen *Piscirickettsia salmonis* and the Sea Louse *Caligus rogercresseyi*. *PLOS ONE* 9, e95397. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095397>
- Lupo, C., Travers, M.-A., Tourbiez, D., Barthélémy, C.F., Beaunée, G., Ezanno, P., 2019. Modeling the Transmission of *Vibrio aestuarianus* in Pacific Oysters Using Experimental Infection Data. *Frontiers in Veterinary Science* 6.

- Michenet, A., Saintilan, R., Venot, E., Phocas, F., 2016. Insights into the genetic variation of maternal behavior and suckling performance of continental beef cows. *Genet Sel Evol* 48, 45. <https://doi.org/10.1186/s12711-016-0223-z>
- Misztal, I., Tsuruta, S., Strabel, T., Auvray, B., Druet, T., Lee, D.H., 2002. BLUPF90 and related programs (BGF90). Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, August, 2002. Session 28 1–2.
- Moore, M.D., Jaykus, L.-A., 2018. Virus–Bacteria Interactions: Implications and Potential for the Applied and Agricultural Sciences. *Viruses* 10, 61. <https://doi.org/10.3390/v10020061>
- Muranty, H., Goffinet, B., 1997. Selective Genotyping for Location and Estimation of the Effect of a Quantitative Trait Locus. *Biometrics* 53, 629–643. <https://doi.org/10.2307/2533963>
- Murray, A.G., Peeler, E.J., 2005. A framework for understanding the potential for emerging diseases in aquaculture. *Preventive Veterinary Medicine* 67, 223–235. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.10.012>
- Nicolas, J.L., Comps, M., Cochennec, N., 1992. Herpes-like virus infecting Pacific-oyster larvae, *Crassostrea gigas*. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists (United Kingdom)*.
- Nordio, D., Khtikian, N., Andrews, S., Bertotto, D., Leask, K., Green, T., 2021. Adaption potential of *Crassostrea gigas* to ocean acidification and disease caused by *Vibrio harveyi*. *ICES Journal of Marine Science* 78, 360–367. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsaa080>
- Oden, E., Martenot, C., Berthaux, M., Travallé, E., Malas, J.P., Houssin, M., 2011. Quantification of ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) in *Crassostrea gigas* by real-time PCR: Determination of a viral load threshold to prevent summer mortalities. *Aquaculture* 317, 27–31. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.04.001>
- Palaiokostas, C., Vesely, T., Kocour, M., Prchal, M., Pokorova, D., Piackova, V., Pojezdal, L., Houston, R.D., 2019. Optimizing Genomic Prediction of Host Resistance to Koi Herpesvirus Disease in Carp. *Frontiers in Genetics* 10.
- Pathirana, E., Fuhrmann, M., Whittington, R., Hick, P., 2019. Influence of environment on the pathogenesis of Ostreid herpesvirus-1 (OsHV-1) infections in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) through differential microbiome responses. *Heliyon* 5, e02101. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02101>
- Penaloza, C., Barria, A., Papadopoulou, A., Hooper, C., Preston, J., Green, M., Helmer, L., Hammerson, J.K., Schulze, J.N., Minardi, D., Gundappa, M.K., Macqueen, D., Hamilton, J., Houston, R.D., Bean, T.P., 2022. Genome-wide association and genomic prediction of growth traits in the European flat oyster (*Ostrea edulis*) (preprint). *Genetics*. <https://doi.org/10.1101/2022.06.10.495672>
- Peñaloza, C., Gutierrez, A.P., Eöry, L., Wang, S., Guo, X., Archibald, A.L., Bean, T.P., Houston, R.D., 2021. A chromosome-level genome assembly for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *GigaScience* 10, giab020. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab020>
- Pepin, J.-F., 2013. Short Technical Report for OsHV-1 detection and quantification by Real Time Polymerase Chain Reaction using OsHV-1 DNA polymerase sequence.
- Pepin, J.F., Riou, A., Renault, T., 2008. Rapid and sensitive detection of ostreid herpesvirus 1 in oyster samples by real-time PCR. *Journal of Virological Methods* 149, 269–276. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2008.01.022>
- Pernet, F., Barret, J., Gall, P.L., Corporeau, C., Dégremont, L., Lagarde, F., Pépin, J.-F., Keck, N., 2012. Mass mortalities of Pacific oysters *Crassostrea gigas* reflect infectious diseases and vary with farming practices in the Mediterranean Thau lagoon, France. *Aquaculture Environment Interactions* 2, 215–237. <https://doi.org/10.3354/aei00041>
- Petton, B., Bruto, M., James, A., Labreuche, Y., Alunno-Bruscia, M., Le Roux, F., 2015. *Crassostrea gigas* mortality in France: the usual suspect, a herpes virus, may not be the killer in this polymicrobial opportunistic disease. *Frontiers in Microbiology* 6.

- Petton, B., Destoumieux-Garzón, D., Pernet, F., Toulza, E., de Lorgeril, J., Degremont, L., Mitta, G., 2021. The Pacific Oyster Mortality Syndrome, a Polymicrobial and Multifactorial Disease: State of Knowledge and Future Directions. *Frontiers in Immunology* 12.
- Qi, H., Song, K., Li, C., Wang, W., Li, B., Li, L., Zhang, G., 2017. Construction and evaluation of a high-density SNP array for the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *PLOS ONE* 12, e0174007. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174007>
- Renault, T., Le Deuff, R.M., Cochenne, N., Chollet, B., Maffart, P., 1995. Herpes-like viruses associated with high mortality levels in larvae and spat of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*: a comparative study, the thermal effects on virus detection in hatchery-reared larvae, reproduction of the disease in axenic larvae. *Vet Res* 26, 539–543.
- Saulnier, D., De Decker, S., Haffner, P., 2009. Real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Vibrio aestuarianus* in oyster and seawater: A useful tool for epidemiologic studies. *Journal of Microbiological Methods* 77, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.01.021>
- Saulnier, D., De Decker, S., Haffner, P., Cobret, L., Robert, M., Garcia, C., 2010. A Large-Scale Epidemiological Study to Identify Bacteria Pathogenic to Pacific Oyster *Crassostrea gigas* and Correlation Between Virulence and Metalloprotease-like Activity. *Microb Ecol* 59, 787–798. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9620-y>
- Schikorski, D., Faury, N., Pepin, J.F., Saulnier, D., Tourbiez, D., Renault, T., 2011. Experimental ostreid herpesvirus 1 infection of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: Kinetics of virus DNA detection by q-PCR in seawater and in oyster samples. *Virus Research* 155, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.031>
- Segarra, A., Mauduit, F., Faury, N., Trancart, S., Dégrement, L., Tourbiez, D., Haffner, P., Barbosa-Solomieu, V., Pépin, J.-F., Travers, M.-A., Renault, T., 2014. Dual transcriptomics of virus-host interactions: comparing two Pacific oyster families presenting contrasted susceptibility to ostreid herpesvirus 1. *BMC Genomics* 15, 580. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-580>
- Uffelmann, E., Huang, Q.Q., Munung, N.S., de Vries, J., Okada, Y., Martin, A.R., Martin, H.C., Lappalainen, T., Posthuma, D., 2021. Genome-wide association studies. *Nat Rev Methods Primers* 1, 1–21. <https://doi.org/10.1038/s43586-021-00056-9>
- Ulveling, D., Le Clerc, S., Cobat, A., Labib, T., Noirel, J., Laville, V., Coulonges, C., Carpentier, W., Nalpas, B., Heim, M.H., Poynard, T., Cerny, A., Pol, S., Bochud, P.-Y., Dabis, F., Theodorou, I., Lévy, Y., Salmon, D., Abel, L., Dominguez, S., Zagury, J.-F., Group, the H.A.C.C.S., Group, the S.H.C.C.S., Group, the F.A.H.E. 26 G.S., 2016. A new 3p25 locus is associated with liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus-coinfected patients. *Hepatology* 64, 1462–1472. <https://doi.org/10.1002/hep.28695>
- VanRaden, P.M., 2008. Efficient Methods to Compute Genomic Predictions. *Journal of Dairy Science* 91, 4414–4423. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0980>
- Wang, J., 2012. Computationally Efficient Sibship and Parentage Assignment from Multilocus Marker Data. *Genetics* 191, 183–194. <https://doi.org/10.1534/genetics.111.138149>
- Xing, C., Xing, G., 2009. Power of selective genotyping in genome-wide association studies of quantitative traits. *BMC Proceedings* 3, S23. <https://doi.org/10.1186/1753-6561-3-S7-S23>
- Yáñez, J.M., Barría, A., López, M.E., Moen, T., Garcia, B.F., Yoshida, G.M., Xu, P., 2022. Genome-wide association and genomic selection in aquaculture. *Reviews in Aquaculture* n/a. <https://doi.org/10.1111/raq.12750>
- Yang, B., Zhai, S., Zhang, F., Wang, H., Ren, L., Li, Y., Li, Q., Liu, S., 2022. Genome-wide association study toward efficient selection breeding of resistance to *Vibrio alginolyticus* in Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 548, 737592. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737592>
- Zhai, S., Yang, B., Zhang, F., Li, Q., Liu, S., 2021. Estimation of genetic parameters for resistance to *Vibrio alginolyticus* infection in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 538, 736545. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736545>

- Zhang, Guofan, Fang, X., Guo, X., Li, L., Luo, R., Xu, F., Yang, P., Zhang, L., Wang, X., Qi, H., Xiong, Z., Que, H., Xie, Y., Holland, P.W.H., Paps, J., Zhu, Y., Wu, F., Chen, Y., Wang, Jiafeng, Peng, C., Meng, J., Yang, L., Liu, J., Wen, B., Zhang, N., Huang, Z., Zhu, Q., Feng, Y., Mount, A., Hedgecock, D., Xu, Z., Liu, Y., Domazet-Lošo, T., Du, Y., Sun, X., Zhang, Shoudu, Liu, B., Cheng, P., Jiang, X., Li, J., Fan, D., Wang, W., Fu, W., Wang, T., Wang, B., Zhang, J., Peng, Z., Li, Yingxiang, Li, Na, Wang, Jinpeng, Chen, M., He, Y., Tan, F., Song, X., Zheng, Q., Huang, R., Yang, Hailong, Du, X., Chen, L., Yang, M., Gaffney, P.M., Wang, S., Luo, L., She, Z., Ming, Y., Huang, W., Zhang, Shu, Huang, B., Zhang, Y., Qu, T., Ni, P., Miao, G., Wang, Junyi, Wang, Q., Steinberg, C.E.W., Wang, H., Li, Ning, Qian, L., Zhang, Guojie, Li, Yingrui, Yang, Huanming, Liu, X., Wang, Jian, Yin, Y., Wang, Jun, 2012. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature* 490, 49–54. <https://doi.org/10.1038/nature11413>
- Zhou, X., Carbonetto, P., Stephens, M., 2013. Polygenic Modeling with Bayesian Sparse Linear Mixed Models. *PLOS Genetics* 9, e1003264. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003264>

3. Conclusion/ouverture

3.1. Estimation du gain phénotypique

Dans ce manuscrit, nous avons démontré que la sélection génomique augmente la précision de la sélection, particulièrement pour OsHV-1 et la coinfection. Il reste cependant nécessaire de convertir cette valeur de précision en une valeur de gain de survie pour la génération suivante afin de mieux percevoir les bénéfices de la sélection génomique. Pour cela nous avons suivi la démarche développée par Griot (2021).

Une pression de sélection de 10% est exercée en prenant en compte les phénotypes des trois conditions, l'incidence équivaut au taux de survie observée dans les différentes conditions et les précisions obtenues par un modèle à seuil ou un modèle linéaire sont égales. La Figure 19 montre la relation entre les valeurs génétiques des individus de la coinfection, estimée avec un modèle à seuil et un modèle linéaire. La corrélation entre les deux estimations était de 0,98. Plusieurs étapes sont nécessaires pour parvenir à estimer le gain phénotypique ou gain de survie à chaque génération.

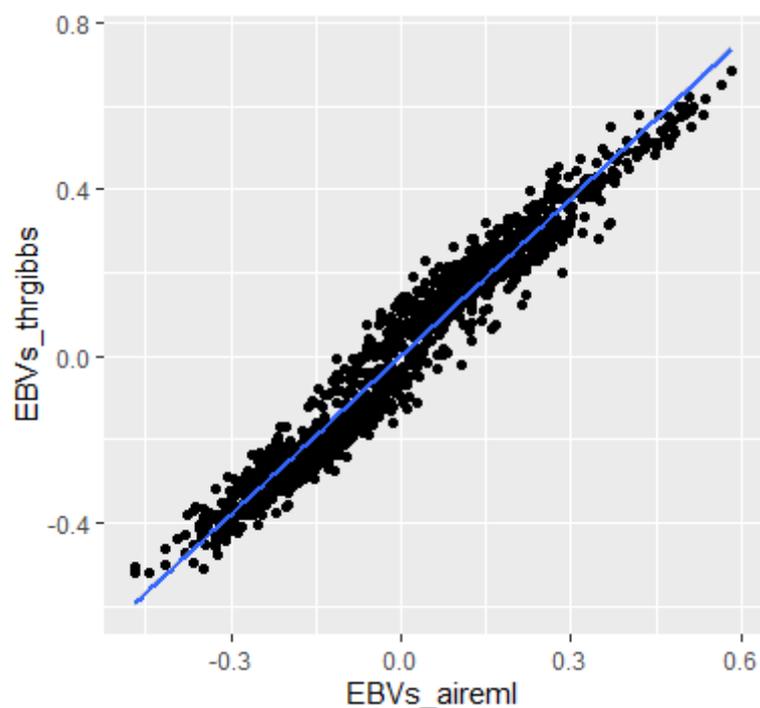


Figure 19: Corrélation des valeurs génétiques estimées pour la résistance à la coinfection avec un modèle linéaire et avec un modèle à seuil

- *Estimation du gain génétique*

La première étape consiste à estimer le gain génétique réalisé sur l'échelle sous-jacente par un modèle à seuil et d'exprimer cette progression de la moyenne des valeurs génétiques sur l'échelle sous-jacente en une valeur sur l'échelle observée grâce à la loi normale (Dempster and Lerner, 1950) correspondant à la moyenne estimée pour la génération suivante.

La première étape est donc :

$$\Delta G = i * r * \sigma_{g_u}$$

Avec ΔG le gain génétique sur l'échelle sous-jacente, i l'intensité de sélection pour une pression de 10% fixée à 1,75, r la précision de la sélection estimée par un modèle linéaire et σ_{g_u} l'écart-type génétique sur l'échelle sous-jacente estimée par un modèle à seuil. Ici, σ_{e_u} a été fixée à 1 donc $\sigma_{g_u} = h$.

- *Estimation du gain phénotypique*

Puis le gain phénotypique est estimé par l'équation suivante :

$$\Delta P = F(F^{-1}(Sn) + \Delta G) - Sn$$

Avec ΔP le gain de survie, exprimé comme la différence entre la survie estimée entre deux générations consécutives, F la fonction de répartition de la loi normale $N(0, \sigma_{p_u})$ et F^{-1} son inverse et Sn le taux de survie à la génération.

- *Prise en compte de l'effet Bulmer*

La sélection modifie la variance génétique additive en changeant les fréquences des allèles et en générant des corrélations entre les allèles à différents loci (déséquilibre de liaison). Ces modifications de la variance génétique additive dues au déséquilibre sont appelées "effets Bulmer" (Bulmer, 1971). L'équation de Bulmer permet de calculer la modification de la variance génétique due à la sélection. Tout d'abord, on calcule la variance génétique estimée au sein des individus sélectionnés (Falconer and Mackay, 1996) :

$$Vg^* = Vg_n * (1 - (i(i - x) * r^2))$$

Où Vg^* représente la variance génétique des individus sélectionnés, Vg_n la variance génétique de la génération n , i l'intensité de sélection toujours fixée à 1,75 pour une pression

de sélection de 10%, x le point de troncature de la loi normale $N(0,1)$ en $1 - p$, avec p la pression de sélection et r la précision de la sélection.

Puis, on calcule la variance génétique estimée à la génération suivante (Falconer and Mackay, 1996) :

$$Vg_{n+1} = \frac{1}{2}Vg^* + \frac{1}{2}Vg_n$$

- *Estimation sur plusieurs générations*

Afin d'étudier les différences d'une sélection sur pedigree ou génomique sur le gain phénotypique sur plusieurs générations, nous avons simulé 10 générations. Le taux de survie initial était celui du challenge et, à chaque génération, il était estimé comme précédemment. Il est également supposé que la précision restait constante au cours des générations. Pour observer si la suppression d'individus issus de sélection dans la population influait sur la réponse en terme de gain de survie à chaque génération, tous les descendants issus d'un croisement avec un parent IFR ont été retirés. L'incidence de chaque challenge a été recalculée en proportion du nombre d'individu génotypé de chaque origine (hormis IFR, supprimée du jeu de données) puis tous les paramètres génétiques et la précision de la sélection ont été ré-estimés.

- *Résultats et discussion*

La Figure 20 illustre les résultats du gain de survie, estimés à partir de la précision de la sélection pour les trois conditions testées. Pour la condition *V. aestuarianus* il n'est pas étonnant de voir que la sélection génomique n'apporte pas de gain de survie supplémentaire par rapport à une sélection sur pedigree que ce soit avec les individus issue de sélection ou sans. En revanche pour les conditions OsHV-1 et coinfection, la sélection génomique offre un avantage par rapport à la sélection sur pedigree d'environ deux générations avec une survie atteignant 95% en seulement 3 générations avec une sélection GBLUP contre 5 générations en sélection sur le pedigree (BLUP). Les estimations de gain de survie pour les individus uniquement d'origine sauvage montrent clairement que le niveau de survie initial est plus faible mais le gain de survie par génération est à chaque fois supérieur, arrivant à 95% de survie à peu près à la même génération. Cela peut s'expliquer par le fait d'une estimation de

la précision de la sélection plus élevée avec seulement les animaux d'origine sauvage. La Figure 21 montre une analyse en composante principale de l'ensemble des individus génotypés dans cette étude. Il apparaît très clairement une structuration de la population par les géniteurs IFR créant des sous populations ayant des fréquences alléliques différentes à celle de la population totale. Cela induit une baisse de la précision de la prédiction des EBVs et peut être une cause d'un masquage de l'architecture génétique pour certains caractères comme la résistance à la nodavirose chez le bar (Griot et al., 2021). Cependant, cela ne suggère pas que les descendants d'individus IFR réduisent le niveau de performance de la population, mais plutôt que les estimations de leurs EBVs seront moins précises que si ces animaux faisaient partie d'une population génétiquement plus proche.

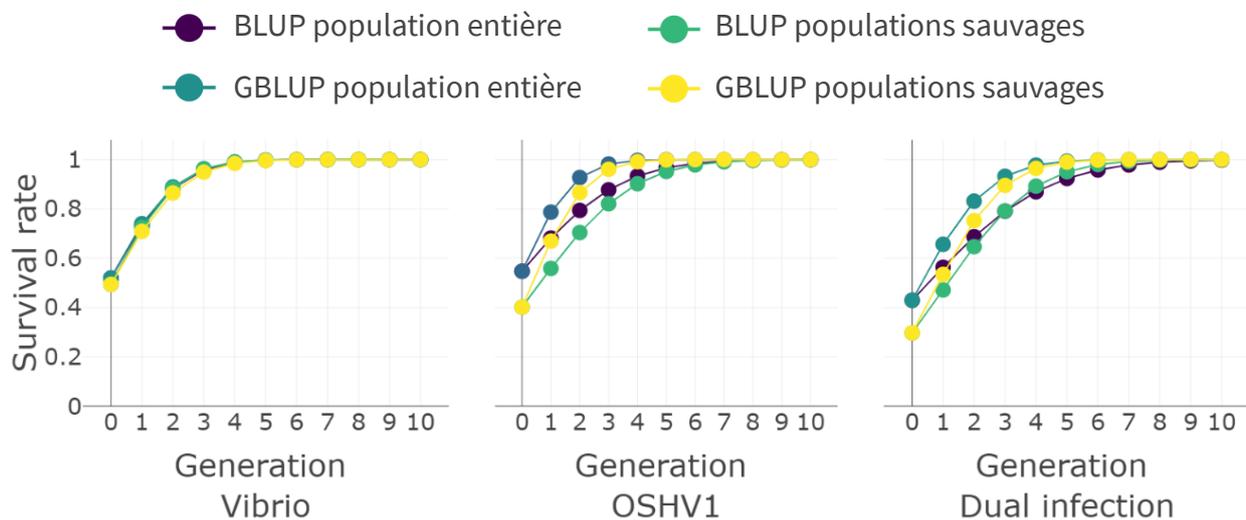


Figure 20: Prédiction du taux de survie sur 10 générations de sélection en fonction du type de sélection (BLUP vs GBLUP) et pour deux populations, une issue de géniteurs d'origine sauvage et une incluant en plus les descendant des géniteur sélectionnés IFR.

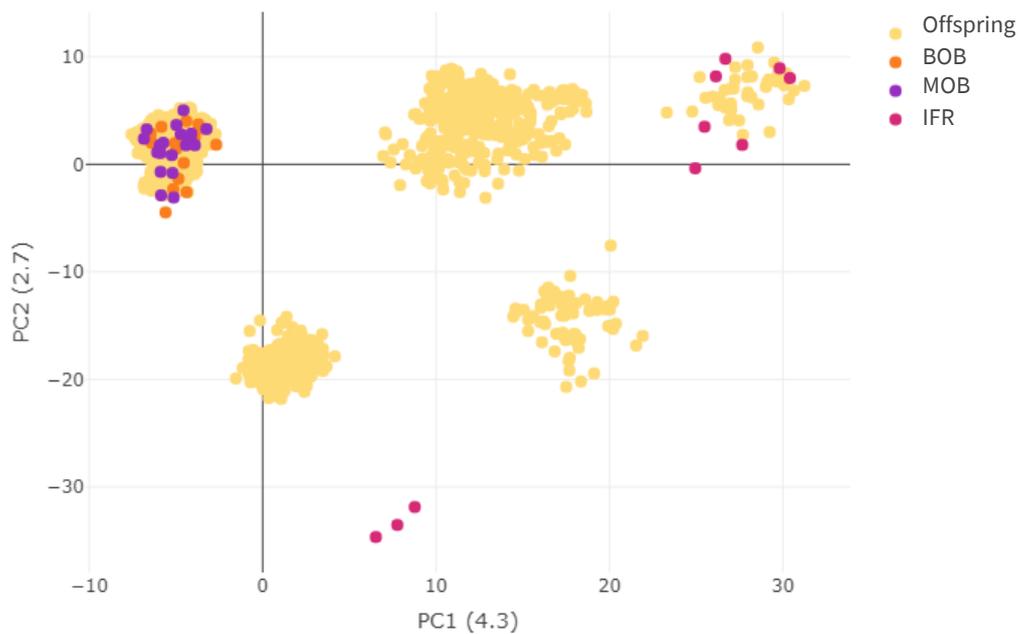


Figure 21: Deux premiers axes d'une analyse en composante principale de l'ensemble des individus génotypés sur les 13K SNP.

3.2. Exploration de scénarios d'indexation

Les résultats obtenus ont montré que la précision de la sélection est meilleure avec la sélection génomique qu'avec une sélection sur pedigree et que des gains de survie rapides sont attendus aussi bien en sélection sur un seul agent pathogène (*Vibrio* ou virus) qu'en sélection en coinfection. Cependant cela ne renseigne pas sur la stratégie à adopter pour mettre en place une sélection visant à améliorer la résistance aux deux maladies.

Toutes les familles ont été testées dans les trois conditions. En utilisant le lien génétique entre tous les individus et en évaluant la sélection génomique avec un modèle GBLUP, nous avons pu estimer les valeurs génétiques estimées (G)EBVs de tous les animaux pour leur résistance au challenge spécifique, ainsi que pour les deux autres conditions.

Pour tester les scénarios de sélection, il est envisageable de comparer divers index en se basant sur les valeurs d'EBV pour tous les animaux et dans toutes les conditions. Par exemple, il est possible de concevoir un index de co-infection à 100%, un index à 100% spécifique à OsHV-1, un index à 100% spécifique à *V. aestuarianus*, ainsi qu'un index équilibré à parts égales de 50/50 pour les deux maladies. Il est également possible de créer un index

déséquilibré, tel qu'un index de 80% pour l'une des maladies et 20% pour l'autre. En comparant ces différents scénarios d'index, et notamment le gain génétique obtenu pour chaque condition, il devient possible de prendre une décision en accord avec les objectifs de sélection.

Au préalable, pour simuler des conditions réelles de sélection un lot de candidats a été créé *in silico* en masquant les phénotypes de 25% des animaux tirés au hasard, proportionnellement au nombre d'animaux génotypés pour chaque condition (Figure 22). Ces animaux ont ensuite été indexés et une pression de sélection de 10% a été simulée. Les moyennes des GEBVs de ces animaux sélectionnés pour chaque index sont représentées dans la Figure 23 pour les trois différentes conditions. Par exemple avec un index à 70% OsHV-1 et 30% *V. aestuarianus* (voir Figure 23 : 0.7_OsHV1__0.3_vibrio), les 10% meilleurs animaux du lot de candidats sont retenus et leur EBVS estimés sont : dans la condition OsHV-1 = 0,17 ; dans la condition coinfection = 0,08 ; dans la condition *V. aestuarianus* = 0,10. L'ensemble de ces étapes a été répété 50 fois en tirant aléatoirement différents animaux pour constituer le lot de candidats.

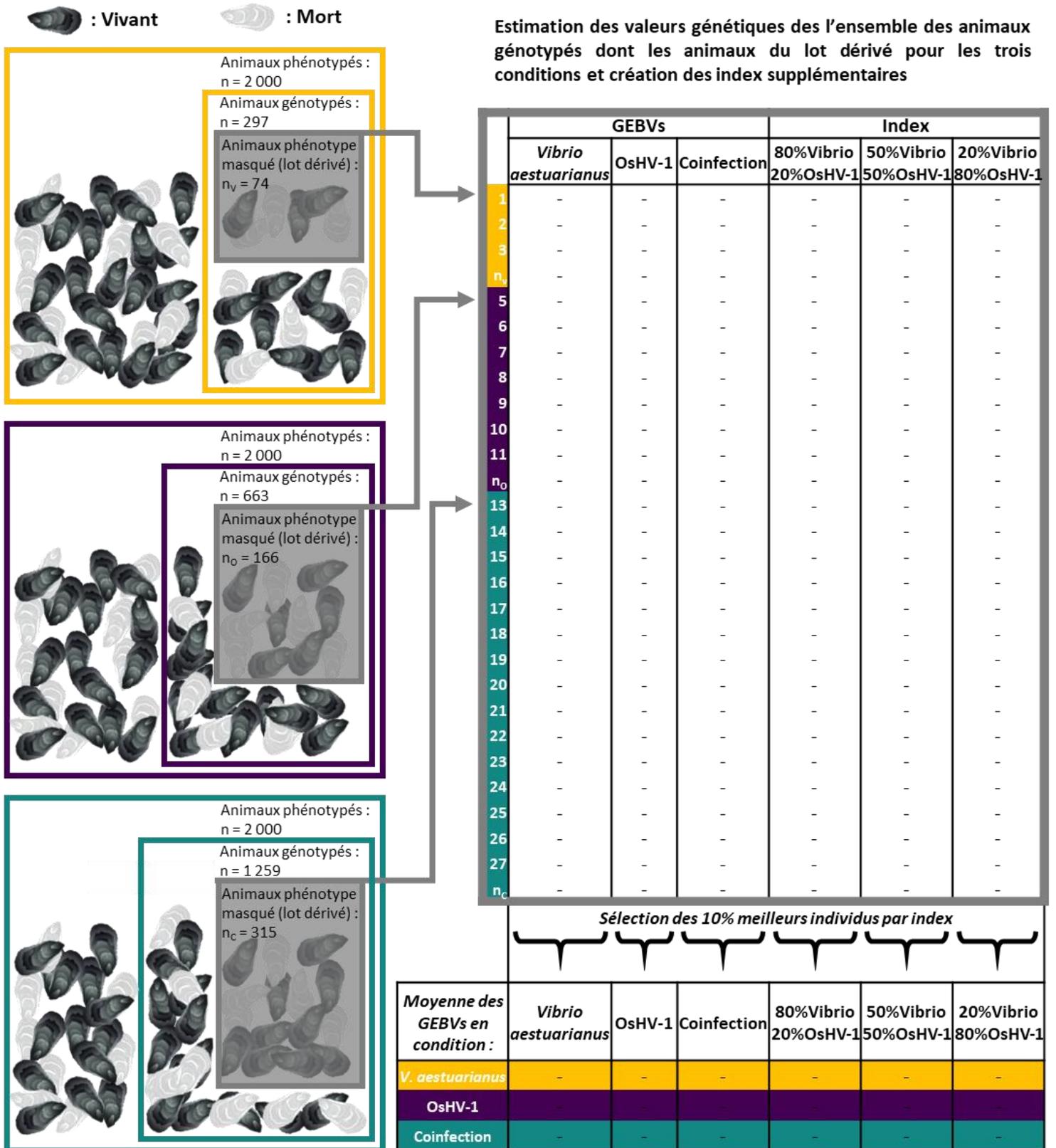


Figure 22: Schéma des étapes de constitution du lot de candidats (lot dérivé) et de comparaison des différents index pour le gain génétique dans les trois conditions expérimentales (répété 50 fois).

En examinant « l'index_Coinf » (moyenne des GEBVs aux trois conditions expérimentales des animaux sélectionnés à partir du challenge de coinfection) en abscisse sur la Figure 23, les valeurs moyennes des GEBVs pour les conditions OsHV-1 et *V. aestuarianus* sont en dessous des maximums obtenus par les autres index. En revanche, la valeur moyenne des GEBVs pour la condition coinfection est bien au-dessus que celle estimée en appliquant une double sélection aux agents pathogènes OsHV-1 et *V. aestuarianus* peu importe l'index. Cela signifie que dans des régions où les deux agents pathogènes sont fréquemment détectés ensemble lors d'épisodes de fortes mortalités, une sélection sur un phénotype de résistance à la coinfection est à considérer pour maximiser le progrès génétique et diminuer la mortalité. Sinon, les efforts déployés risqueraient d'être vains en raison d'une mauvaise définition du trait sélectionné.

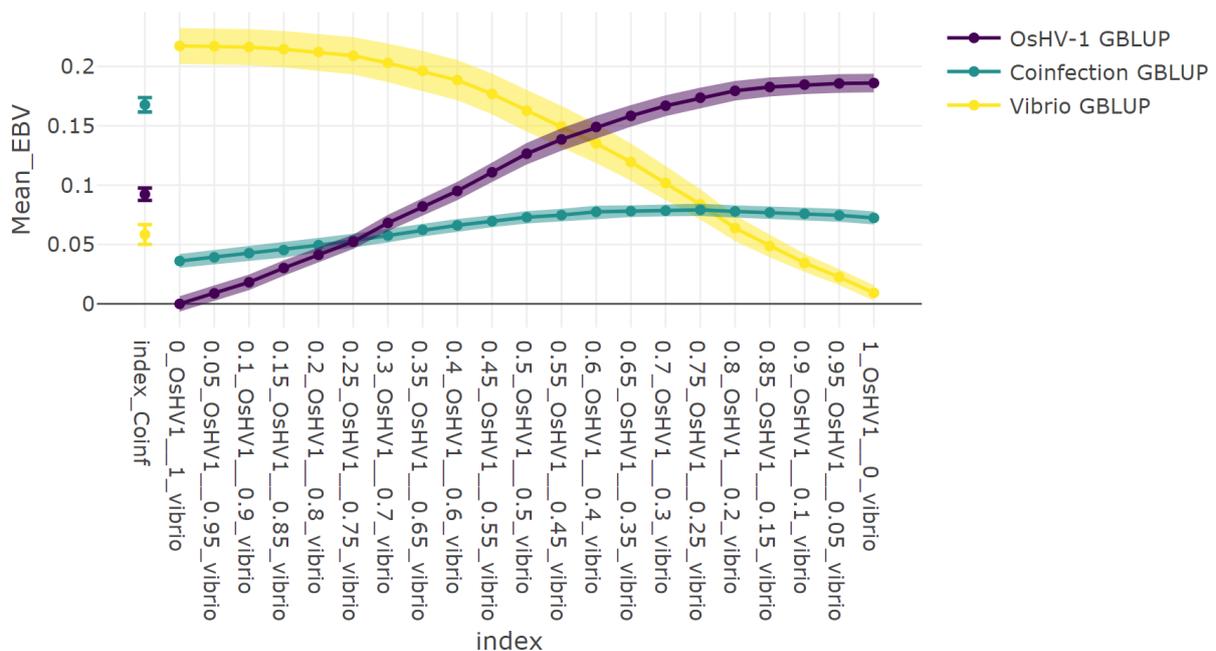


Figure 23: Représentation des moyennes des GEBVs (Mean_EBV) pour la survie aux trois conditions expérimentales, des individus sélectionnés avec une pression de sélection de 10% et de l'intervalle de confiance à 95% pour les trois conditions et sous différents scénarios d'indexation.

Chapitre 4

Discussion générale

En France, la filière de production ostréicole est principalement composée d'un grand nombre de petites entreprises qui s'approvisionnent traditionnellement en naissain issu de captage en zone intertidale. Cela a longtemps limité le développement de la production de naissain en écloserie et donc la possibilité de développement de programmes d'amélioration génétique, qui nécessitent des investissements conséquents, difficiles à envisager pour un marché concurrentiel. La maîtrise du cycle de reproduction a cependant ouvert le développement d'écloseries commerciales (Robert et Gérard, 1999), ouvrant ainsi la voie à la production de naissain triploïde (Nell, 2002) puis à des programmes de sélection. Aujourd'hui, la majorité des programmes de sélection des écloseries d'huîtres priorisent des caractères de croissance, de morphologie et de résistance aux maladies en s'appuyant sur des schémas de sélection massale ou familiale. Depuis quelques années, ces schémas de sélection ont évolué en passant à l'élevage en familles mélangées avec reconstruction du pedigree par génotypages. Cela permet notamment une meilleure maîtrise de la diversité génétique dans les populations en sélection et réduit les coûts associés à la production de familles élevées dans des structures individuelles et les biais associés. Grâce aux avancées des techniques de séquençage haut-débit et à la réduction des coûts associés aux outils génomiques, il est maintenant possible de réaliser le génotypage avec des puces à SNPs comportant plusieurs dizaines voire centaines de milliers de marqueurs pour diverses espèces aquacoles (voir pour revue: Boudry et al., 2021 ; Song et al., 2023 ; Yáñez et al., 2022). Cette plus grande accessibilité au génotypage à haut débit, ainsi que les résultats prometteurs de la sélection génomique pour des espèces terrestres ou aquatiques, tels que le saumon, la truite, le bar ou la dorade, ont suscité l'intérêt de la majorité des entreprises d'écloserie française d'huîtres, pour l'application de la sélection génomique avec le soutien du SYSAAF.

Dans ce contexte, l'objectif principal de cette thèse a été d'évaluer la faisabilité de la mise en place de la sélection génomique pour des caractères d'intérêts dans les schémas actuels de sélection de l'huître creuse *C. gigas*. L'analyse de leur architecture génétique par détection de QTL et l'estimation des gains génétiques nous permettent de proposer des pistes d'amélioration des schémas de sélection et des perspectives pour une bonne application de la sélection génomique.

1. Résumé des principaux résultats

1.1. Validation d'une puce SNP en populations commerciales ou expérimentales chez *C. gigas*

Dans les deux chapitres précédents, le même outil de génotypage a été utilisé en appliquant les mêmes étapes de filtration des marqueurs indépendamment dans chaque population. La puce à bi-espèce Axiom Affymetrix 57K SNP (Gutierrez et al., 2017), comportant 40 625 SNP dédiés à *C. gigas*, a pu être testée dans deux populations commerciales (P1 et P2) de 1270 et 1150 individus et une population expérimentale (P3) de 2304 individus. Le contrôle qualité a permis de retenir 14 469 SNPs (35,6%), 14 452 SNPs (35,6%) et 13 701 SNPs (33,7%) sur les 40 625 marqueurs disponibles pour P1, P2 et la population expérimentale, respectivement (Figure 24). Malgré des nombres proches de marqueurs retenus, seuls 5068 SNPs sont communs aux trois populations et entre 7500 et 8500 SNPs sont communs entre les populations deux à deux. Les raisons des différences de marqueurs sont liées aux différents seuils de qualité lors du génotypage (Call rate, MAF, p-value de la déviation de l'équilibre d'Hardy-Weinberg) mais aussi au fait que certains marqueurs sont polymorphes dans une population mais monomorphes dans une autre (voir Chapitre 2, Article 1, Results).

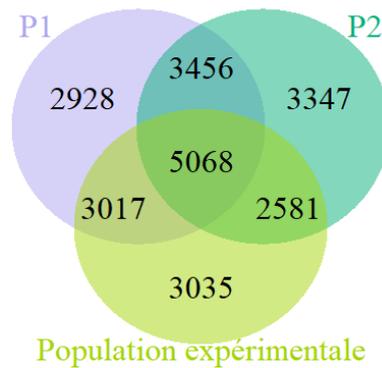


Figure 24: Diagramme de Venn des SNPs retenus après filtration sur le logiciel AxAS dans les trois populations.

Lorsque les séquences des SNPs retenus sont alignées avec le meilleur génome de référence actuel de l'espèce (Peñaloza et al., 2021), le nombre de marqueurs ayant une position unique sur l'un des 10 chromosomes diminue encore la quantité de données disponibles. Au final, ce sont seulement 12 454, 12 267 et 12 274 SNPs qui ont pu être utilisés lors des différentes analyses dans les trois populations. Cela souligne la diversité génétique présente chez *C. gigas* et les différences génétiques entre les trois populations. Ces résultats ainsi que ceux de trois études précédentes (Gutierrez et al., 2018 ; Gutierrez et al., 2020 ; Vendrami et al., 2019) montrent que cette puce permet seulement de génotyper quelques milliers de marqueurs de bonne qualité dans des populations de fonds génétiques différents. Cependant, avec la faible proportion de marqueurs de haute qualité, il est évident que l'exploitation de cette puce n'est pas optimale, notamment pour la réduction des coûts dans le cadre d'une sélection génomique par les écloséries. En effet, le génotypage représente un investissement significatif pour ces entreprises, et il est primordial d'utiliser au maximum toutes les informations disponibles pour l'ensemble des SNPs.

Dans les trois populations, il a aussi été observé que la répartition des marqueurs le long du génome était hétérogène avec des chromosomes (1, 3, 6, 7 et 10) plus denses en SNPs (≈ 33 SNPs/Mb) et d'autres, au contraire, avec des régions très peu denses en SNP ($\approx 7,5$ SNPs/Mb) voire avec des portions complètes sans aucun marqueur sur certains chromosomes (2, 5, 8, 9).

Bien que cette puce bi-espèce Axiom Affymetrix 57K SNP (Gutierrez et al., 2017) ait permis des avancées significatives en recherche et pour l'évaluation génomique de populations en sélection, ses limites soulèvent la nécessité de développer de nouveaux outils plus performants et efficaces (plus ou moins de marqueurs, une meilleure répartition), adaptés à

des analyses spécifiques (assignation de parenté, sélection génomique, détection de QTL) et à une population donnée ou non. Ces différents points seront développés dans la section 2 de ce chapitre.

1.2. Sélection génomique

Dans cette thèse, nous avons eu pour objectif principal d'évaluer l'efficacité de la sélection génomique pour des caractères de croissance, de qualité et de résistance à différents agents pathogènes chez l'huître creuse, en comparant la précision de la sélection génomique à celle de la sélection basée sur le pedigree. L'héritabilité de l'ensemble de ces caractères s'est avérée très variable, allant de 0,04 à 0,69. Pour les deux populations commerciales et la population expérimentale, la sélection génomique a montré un gain de précision par rapport à la sélection sur pedigree pour la plupart des phénotypes. Bien que non optimale, la qualité de la puce à SNP était donc suffisante pour obtenir ces conclusions. Seuls deux caractères de couleur ayant une faible héritabilité génomique estimée dans une seule population, ainsi que le caractère de résistance à *V. aestuarianus* où le nombre d'individus génotypés était limité, n'ont pas montré de meilleures précisions d'estimation des valeurs génétiques avec l'information génomique. Hormis ces caractères, les gains de précision estimés par la sélection génomique varient de 6 à 60% en fonction des caractères et des populations (voir Chapitre 2, Article 1 et Chapitre 3, Article 2). Ces gains sont cohérents, voire supérieurs, aux études précédentes sur *C. gigas* qui ont montré des gains de précision compris entre 6 et 30% pour les caractères de croissance et de résistance à OsHV-1 (Gutierrez et al., 2018 ; Gutierrez et al., 2020). Cependant, ils sont moins importants que pour certains caractères décrits chez *C. angulata*, tels que la résistance à *Marteilioides chungmuensis* avec un gain de précision de 200%, ou la valeur de couleur L* du manteau avec un gain de précision de 171% (Vu et al., 2021a, 2021b). Une partie de l'explication des gains de précision plus faibles provient des bonnes précisions obtenues par sélection sur pedigree, sans génomique, dans cette thèse. Cela est dû au schéma de croisement utilisé par semi-factoriel dans les populations commerciales, qui offre une plus grande quantité d'informations sur les liens génétiques entre de nombreux individus (Dupont-Nivet et al., 2006) que dans le plan de fécondation utilisé par Vu et al. (2021a, 2021b) (chaque mâle féconde deux femelles). De plus, dans les schémas de populations commerciales, les familles ont été élevées en commun dès le stade

larvaire, au lieu d'être élevées en familles séparées, ce qui limite les biais d'évaluation liés aux effets environnementaux (bassin, poche, ligne...).

1.3. Détection de QTLs

L'étude de l'architecture génomique des caractères de croissance, de qualité et de résistance aux maladies a montré leur nature polygénique (voir Chapitre 2, section 3.3 et Chapitre 3, Article 2). Cependant, trois QTLs ont été détectés grâce à un modèle GBLUP pour les caractères de croissance sur le chromosome 7, et huit QTLs ont été identifiés sur le chromosome 9 pour les caractères de couleur dans la population 2. Pour la résistance aux maladies, la population 3, issue de géniteurs de trois origines différentes, a permis d'obtenir des phénotypes contrastés dans les trois conditions de challenge à des agents pathogènes (*V. aestuarianus*, OsHV-1 et coinfection). Un total de dix QTLs a été détecté sur les chromosomes 5, 6, 7 et 10 pour les challenges à OsHV-1 et en coinfection. Plus spécifiquement, une région du chromosome 6 avec cinq QTLs semble plus prometteuse pour améliorer la résistance à ces deux types d'infections. En ce qui concerne la résistance à *V. aestuarianus*, aucun QTL n'a été détecté, probablement en raison du nombre limité d'individus génotypés. Les intervalles de confiance des QTLs détectés étaient tous très larges (plusieurs centaines de milliers de paires de bases) ou limités à la position du seul SNP associé. Le manque de précision quant à la position du QTL est imputable au faible nombre de marqueurs disponibles avec la puce à SNPs dans chaque population. Une meilleure précision de la position des QTLs permettrait de mieux estimer la part de la variance phénotypique expliquée par ces QTLs et d'envisager l'application d'une sélection assistée par marqueurs (MAS), en particulier pour les caractères de résistance aux maladies et de couleur de coquille. Un exemple récent de succès chez les huîtres dans l'application de ce type de sélection montre un QTL identifié sur le chromosome 8, influençant la survie sur le terrain et expliquant 13 % de la variation phénotypique (Divilov et al., 2023). Cette application a permis d'obtenir un gain de survie sur estran (en Californie) de 23 %. Les familles créées par l'utilisation à la fois de la sélection sur pedigree et de la MAS avaient, en moyenne, des EBV supérieures de 47 % aux familles créées uniquement par la sélection sur pedigree. Cependant, tant que le variant causal de ce QTL n'est pas identifié, la MAS ne garantit pas la même efficacité sur plusieurs générations. En effet, les événements de recombinaison peuvent conduire à des huîtres portant les allèles sélectionnés aux marqueurs pour la MAS mais sans le variant causal, ce qui conduirait à des faux positifs lors

de la sélection. De nouvelles analyses de détection de QTLs prenant en compte les nouvelles fréquences alléliques seraient alors nécessaires à chaque génération pour s'assurer de la sélection des meilleurs marqueurs à utiliser pour la MAS. Les résultats obtenus dans cette population doivent donc être validés sur plusieurs générations, démontrant la stabilité et la bonne association du QTL.

Dans les populations étudiées dans cette thèse, seuls quelques QTL expliquant plus de 1 % de la variance génétique ont été détectés et quelques QTL ayant un effet fort restent à être précisés. La sélection assistée par marqueurs n'est donc pas une approche privilégiée pour tirer parti de l'information génomique et améliorer l'efficacité de la sélection dans les populations étudiées. En effet, seule la sélection génomique, qui exploite plusieurs milliers de marqueurs, permet de capturer la variance génétique sur l'ensemble du génome. Toutefois, la mise en place d'un programme de sélection basé sur l'information génomique peut représenter un coût important pour les entreprises ostréicoles, en raison des gains de précision attendus qui sont limités par rapport à l'investissement requis pour les outils de génotypage, à moins que ces coûts ne soient encore réduits dans un avenir proche. Différentes solutions d'évolution peuvent être proposées au regard des résultats obtenus dans cette thèse et de la littérature pour s'appliquer au modèle de sélection ostréicole et améliorer la rentabilité et la qualité des productions.

2. Développement et spécification des outils de génotypage

Les résultats de cette thèse mettent en évidence de manière claire les limites de l'utilisation de la puce bi-espèce Axiom Affymetrix 57K SNP (Gutierrez et al., 2017) dans le contexte de l'amélioration génétique des populations sous sélection. D'une part, sa qualité moyenne ne permet pas d'obtenir une grande proportion de SNPs de bonne qualité impliquant un surcout pour les entreprises de sélection. D'autre part, le faible déséquilibre de liaison observé dans les populations d'écloserie étudiées impose un plus grand nombre de SNPs et mieux répartis sur le génome afin d'identifier et de positionner finement des gènes candidats pour différents caractères d'intérêt. Il est donc primordial de prioriser le développement de nouveaux outils de génotypage, en les adaptant plus spécifiquement à leur utilisation prévue.

2.1. Diminution du nombre de SNPs

Dans chacune des trois populations étudiées, un nombre total de 13 000 SNP de bonne qualité a permis d'obtenir des meilleures précisions des GEBVs, ce qui améliorerait le gain génétique comparé à une sélection sur pedigree. La réduction du nombre de marqueurs théoriques de la puce, passant de 40 625 à environ 13 000 marqueurs efficaces, permettrait déjà de réaliser des économies substantielles sur les coûts de génotypage.

Avant tout, il est primordial de déterminer si l'on souhaite disposer d'une puce à SNPs spécifique pour chaque population ou d'une puce « collective ». Une puce à très basse densité de SNPs (quelques centaines) permettrait un faible coût de génotypage et une accessibilité pour des entreprises de plus petite taille. En revanche, créer une telle puce collective à très faible densité serait risqué, étant donné le taux élevé de polymorphisme constaté chez l'huître creuse (Peñaloza et al., 2021 ; Zhang et al., 2012) et le nombre limité de marqueurs communs entre les différentes populations étudiées dans cette thèse. Cette approche induirait une incertitude sur la qualité du génotypage et pourrait compromettre l'efficacité de la sélection. Une autre solution est de développer une puce à faible densité de SNP (quelques milliers) regroupant l'ensemble des SNPs d'intérêt des différentes populations évaluées. Grâce à cette mutualisation, des économies d'échelle peuvent être réalisées, donnant l'accès au génotypage aux entreprises de sélection de plus petite taille.

La réduction des coûts de génotypage semble d'autant plus réalisable que l'utilisation de puce à basse densité de SNP chez plusieurs espèces de poissons permet d'obtenir des niveaux de précision toujours supérieurs à une sélection sur pedigree. Plusieurs options ont été explorées afin de réduire le nombre de SNPs à utiliser d'abord pour des espèces de saumon puis de carpe, de tilapia, de truite, de bar et de daurade (d'Ambrosio, 2020 ; Griot et al., 2021 ; Kriaridou et al., 2020 ; Palaiokostas et al., 2019, 2018 ; Robledo et al., 2018 ; Tsai et al., 2016 ; Tsairidou et al., 2020 ; Yoshida et al., 2019). Il n'existe actuellement aucune méthode surpassant les autres pour la réduction du nombre de SNPs, entre le choix aléatoire à l'échelle du génome, le choix aléatoire par chromosome, le tri en fonction de la MAF, le tri en fonction du déséquilibre de liaison, une combinaison du déséquilibre de liaison et de la MAF, ainsi que la répartition en fonction de la distance physique ou génétique. Chez l'huître creuse, un tri en fonction de la MAF ou par tirage aléatoire des SNPs sur l'ensemble du génome permet 19%

de gain de précision avec 1000 SNPs, comparé à une sélection BLUP sur la résistance à OsHV-1 (Gutierrez et al., 2020). Pour le même caractère, la précision de la prédiction génomique est restée pratiquement inchangée jusqu'à ce que la densité des marqueurs soit réduite en dessous de ~2 000 SNP, et une forte diminution n'a été observée que lorsque le nombre de SNPs était inférieur à 1 000 (Kriaridou et al., 2020). Sur des caractères de croissance, même avec 100 SNPs tirés aléatoirement, la précision de la prédiction des EBVs était supérieure avec 0,52 en GBLUP contre 0,47 en BLUP (Gutierrez et al., 2018).

Quel que soit le nombre exact de marqueurs à retenir, cela démontre que l'utilisation de puces à faible densité (< 5 000 SNP) offre des niveaux de précision comparables à ceux des puces à densité moyenne (< 50 000 SNP), ce qui devrait contribuer à la réduction des coûts de la sélection génomique chez l'huître. Ce travail reste à vérifier dans les populations commerciales. En effet, les effectifs des géniteurs et des populations sous sélection étudiées dans cette thèse sont plus importants que dans les études présentes dans la littérature actuelle. De plus, les faibles niveaux de déséquilibre de liaison détectés dans les populations commerciales de cette thèse peuvent limiter la réduction du nombre de marqueurs tout en maintenant une bonne efficacité de la sélection. Des études supplémentaires sont nécessaires pour définir précisément les marqueurs à retenir pour le design d'une (des) nouvelle(s) puce(s) basse densité sans baisser le niveau de précision et en fonction de la volonté des entreprises de vouloir mutualiser ou non l'outil de génotypage. Sans oublier que la puce basse densité doit rester performante pour l'ensemble des objectifs de sélection, qui peuvent comprendre plusieurs caractères, et qu'elle doit permettre l'incorporation éventuelle de nouveaux caractères.

Une autre stratégie pour réduire le coût de la sélection génomique consiste à utiliser un panel de SNPs à haute densité pour les parents d'une génération, tandis que les animaux collatéraux et les candidats à la sélection sont génotypés avec un panel à faible densité qui est composé d'un sous-ensemble de marqueurs du panel haute densité (Habier et al., 2009 ; Marchini et Howie, 2010). L'imputation des génotypes à faible densité aux génotypes à haute densité permet de calculer les GEBVs en utilisant les génotypes haute densité imputés pour tous les individus. Pour avoir une imputation avec une bonne précision, il est requis d'avoir des populations génétiquement proches car cette méthode repose sur le déséquilibre de liaison entre les marqueurs. L'idée générale de l'imputation est que les individus apparentés

partagent des régions génomiques et donc l'ensemble des marqueurs dans ces régions sont en déséquilibre de liaison et ségrégent ensemble. Lorsque des événements de recombinaison se produisent entre générations, ils entraînent la fragmentation des blocs d'haplotypes. Ainsi, plus deux animaux sont apparentés, plus ils partageront un plus grand nombre d'haplotypes, qui seront également de plus grande longueur. Le déséquilibre de liaison ainsi maintenu sur une longue distance dans les population génétiquement proches permet une bonne précision de l'imputation (Carvalho et al., 2014 ; Hickey et al., 2012) ainsi qu'une meilleure identification des allèles avec une faible fréquence (Liu et al., 2019).

Plusieurs études sur les saumons (Tsai et al., 2017 ; Tsairidou et al., 2020 ; Yoshida et al., 2018) et plus récemment chez la carpe et le turbot (Kriaridou et al., 2023) ont montré qu'une puce d'environ 200 ou 300 marqueurs imputés avec une puce moyenne densité permet d'obtenir des niveaux de précision de prédiction des EBVs équivalents aux précisions obtenues par génotypage de tous les individus sur une puce moyenne densité. Avec une étude par simulation sur les huîtres, une précision de prédiction presque maximale des GEBVs a été estimée en utilisant des panels entre 250 et 500 SNPs imputés à 40 000 SNPs (Delomas et al., 2023). Cependant dans l'étude de Kriaridou et al. (2023) avec des données expérimentales sur l'huître, les niveaux de précision de prédiction des GEBVs étaient inférieurs pour l'ensemble des panels après imputation, tant par rapport aux panels SNP à densité moyenne qu'aux panels à faible densité. La précision de l'imputation était bien inférieure à celle obtenue chez les espèces de poissons même avec un panel à faible densité de 6 000 SNPs. De plus, les précisions obtenues avec les panels à faible densité étaient supérieures à celles des panels à faible densité et imputés. Une explication serait la chute rapide du déséquilibre de liaison chez cette espèce (voir Chapitre 2, Article 1, Figure 2) (Gutierrez et al., 2017 ; Hu et al., 2022 ; Zhong et al., 2017), comparé à d'autres espèces aquacoles. Des densités de SNPs plus élevées seraient alors nécessaires pour obtenir les mêmes résultats de précision d'imputation. D'autres particularités génomiques spécifiques aux mollusques, définies dans l'introduction, dont le fort taux de polymorphisme avec la présence de nombreuses séquences répétées, d'éléments transposables et des niveaux élevés d'hétérozygotie, peuvent avoir joué un rôle dans la précision de l'imputation à cause d'erreurs dans l'ordre et la position physique des marqueurs. Pour améliorer la précision de l'imputation et de la

prédiction qui en résulte, des recherches supplémentaires sont nécessaires dans différentes populations et espèces de bivalves afin d'identifier les paramètres qui peuvent y contribuer.

La solution à privilégier pour le moment pour les entreprises de sélection ostréicole serait donc de diminuer le nombre de marqueurs sans avoir recours à l'imputation mais en maintenant un niveau suffisant de précision pour un large spectre de phénotypes. Par ailleurs, la mutualisation des coûts permettrait ainsi aux petites entreprises de bénéficier du génotypage, tandis que les grandes entreprises pourraient réallouer les économies réalisées vers d'autres objectifs de sélection.

2.2. Augmentation du nombre de SNPs

Hormis le faible rendement de SNPs de bonne qualité acquis avec la puce commerciale Axiom Affymetrix 57K SNP utilisée dans cette thèse, une mauvaise répartition des marqueurs le long du génome a aussi pu être observée sur les trois populations étudiées (voir Chapitre 2, Article 1, Figure 1 et Annexe 2). En effet, plusieurs régions de plus de 1 Mb ne comprenaient aucun marqueur. Afin de développer des puces basse densité performantes, une première étape serait de développer une nouvelle puce à très haute densité (plusieurs centaines de milliers de marqueurs) comme celle développée par Qi et al. (2017) (mais non disponible) voire d'acquérir des données de séquences pour les utiliser sur les populations d'huîtres en sélection génomique. Cette approche permettrait d'identifier de nouveaux marqueurs informatifs dans différentes populations, notamment dans les régions qui ne sont pas suffisamment couvertes par la puce à SNPs utilisée dans cette thèse.

L'utilisation d'un très grand nombre de marqueurs avec des puces très haute densité pour la sélection génomique en routine n'a que peu d'intérêt appliqué. En effet, il est généralement observé que l'augmentation du nombre de marqueurs par rapport à une puce de densité moyenne n'apporte qu'une précision marginale à la sélection génomique, et il n'est pas évident que ce gain justifie les coûts supplémentaires associés au génotypage à très haute densité (Ødegård et al., 2014 ; Tsai et al., 2015). En revanche, l'intérêt du développement de ressources génomiques avec un très grand nombre de marqueurs ou de séquences complètes permettrait par exemple dans notre étude de préciser la localisation et l'effet des QTLs de la

résistance à OsHV-1 et peut-être d'aller jusqu'à l'identification d'un gène candidat ou d'un variant causal. Des exemples de détection de gènes candidats par le passage à la séquence complète existent chez la truite pour la masculinisation spontanée (Fraslin et al., 2020) ou encore chez le saumon pour la résistance à l'IPN (Moen et al., 2015). Même sans parvenir à détecter les variants causaux, en utilisant des données de séquence, il est possible d'améliorer l'identification du nombre de QTLs dans l'intervalle de confiance d'un seul QTL précédemment détecté à l'aide d'une puce de moyenne densité (Sanchez et al., 2017). Dans le cas de la coinfection par exemple, cela pourrait permettre de détecter des mécanismes génétiques sous-jacents à la résistance à OsHV-1 d'une part, à la résistance à *V. aestuarianus* d'autre part ou bien un mécanisme de résistance plus complexe lié à l'interaction entre les deux agents pathogènes. L'inclusion de marqueurs proches des variants causaux dans l'évaluation génomique des populations sous sélection pourrait améliorer la précision de l'analyse, en particulier lorsque les fréquences alléliques sont faibles (Druet et al., 2014).

3. Application dans les programmes de sélection

3.1. Nombre d'individus dans la population de référence

Outre le nombre de marqueurs, les informations phénotypiques de la population de référence sont essentielles pour bien estimer les (G)EBV. Par conséquent, la taille de la population de référence joue un rôle crucial dans la précision de la sélection génomique. À mesure que la taille de la population de référence s'élargit, l'importance des informations phénotypiques augmente, ce qui entraîne une multiplication des enregistrements phénotypiques associés à chaque marqueur et une amélioration de la précision de la sélection génomique. En revanche, si la population de référence est réduite, il devient difficile d'estimer avec précision la valeur de l'effet du marqueur (Song et al., 2023). Cependant, le coût du génotypage augmentera avec une taille de population plus importante. Ce coût élevé limitera l'application de la sélection génomique dans l'élevage. Indépendamment de l'héritabilité des caractères et de la taille efficace de la population, la précision de la sélection génomique augmente avec la taille de la population de référence. C'est ce qu'a montré une étude récente avec la précision de la prédiction génomique qui diminuait avec la réduction de la taille de la population de référence chez quatre espèces aquacoles (saumon de l'Atlantique, carpe

commune, daurade royale et truite arc-en-ciel) (Song and Hu, 2022a). Des résultats similaires ont été obtenus pour la résistance aux maladies chez le bar européen et la daurade royale, dans lesquels la précision de la prédiction génomique s'améliore avec l'augmentation de la taille de la population de référence (Griot et al., 2021). Une taille optimale a quand même été définie en prolongeant l'étude (Griot, 2021) avec environ 600 individus étant donné que le gain de précision obtenu en augmentant le nombre d'individus dans la population de référence ne permettait qu'un gain de survie limité à la génération suivante. Chez la truite, avoir 700 animaux dans la population de référence permettait d'avoir toujours une précision GBLUP supérieure à une sélection BLUP (d'Ambrosio, 2020). Chez la crevette *Litopenaeus vannamei* la taille optimale de la population d'entraînement est estimée à environ 1000 pour les caractères de tolérance à de fortes salinités (Luo et al., 2022). Dans les populations commerciales étudiées dans cette thèse, entre 800 et 900 animaux composaient les populations de références ce qui permettait une meilleure précision qu'une sélection BLUP. Dans la population expérimentale, même avec une héritabilité moyenne pour la résistance à *V. aestuarianus*, les 238 animaux de la population de référence n'étaient pas suffisants pour obtenir une précision largement supérieure à la précision obtenue par BLUP. A l'inverse lorsque la taille de la population de référence était plus conséquente (530 pour OsHV-1 et 1007 pour la coinfection) avec des héritabilités similaires à *V. aestuarianus*, les précisions en GBLUP surpassaient celles en BLUP. Ces résultats suggèrent qu'une taille de population de référence entre 500 et 1000 animaux peut suffire pour améliorer la précision de la sélection mais des études complémentaires ont besoin d'être conduites pour définir plus précisément la taille optimale en fonction des caractères et des populations.

3.2. Nombre de générations

Dans le cadre de cette thèse, toutes les évaluations génomiques ont été effectuées intra-génération en raison de l'absence d'informations ou d'ADN disponibles concernant les générations antérieures. Cependant, pour augmenter la taille de la population de référence et ainsi améliorer la précision de la sélection génomique, il est possible d'accumuler l'information des collatéraux des générations successives. Dans la plupart des espèces sélectionnées, l'évaluation des valeurs génétiques de la génération actuelle intègre les

phénotypes obtenus des générations précédentes (Hayes et al., 2009 ; Wolc et al., 2011). Dans une étude de simulation réalisée par Sonesson et Meuwissen (2009), il a été démontré que l'amélioration de la précision de sélection est observée par l'incorporation successive de phénotypes et de génotypes sur une période de quatre générations, jusqu'à ce qu'elle atteigne un niveau maximal et se stabilise. Ces résultats ont été démontrés chez les volailles, en montrant que les précisions des GEBVs augmentaient lorsque trois générations étaient combinées dans le modèle (Wolc et al., 2016). Cependant, les précisions des GEBVs diminuaient à l'ajout de la quatrième génération. Cela peut s'expliquer par les modifications génétiques qui apparaissent entre les générations telles que les différences de déséquilibre de liaison entre les QTL et les SNPs génotypés qui peuvent réduire la précision de la sélection génomique. Dans une étude par simulation sur la sélection génomique chez l'huître creuse, Delomas et al. (2023) ont mis en garde quant à l'utilisation des informations de phénotype et de génotype des générations antérieures, particulièrement lorsque des panels SNP basse densité sont utilisés (< 2000 SNPs). En effet, une baisse de la précision des GEBVs a été observée au cours des générations. Cependant ce résultat était obtenu en considérant 100 familles composées de 50 plein-frères. En réduisant ce dernier nombre à 10 plein-frères par famille, la baisse de la précision était plus faible. Cette différence peut être attribuée à l'impact distinct des informations phénotypiques supplémentaires sur la prédiction des GEBVs dans les deux scénarios. Dans le cas du scénario avec 10 plein-frères, il est plausible que l'augmentation de puissance résultant des informations phénotypiques supplémentaires l'emporte sur la diminution de puissance due aux changements dans le déséquilibre de liaison. La baisse de la précision des GEBVs a été observée principalement dans les panels SNP de basse densité, vraisemblablement en raison de la modification plus rapide du déséquilibre de liaison entre les QTL et les SNPs génotypés dans ces petits panels. Ces résultats restent néanmoins issus de données de simulations d'un plan de croisement ne ressemblant pas au plan de croisement utilisé dans les programmes de sélection actuels en France. Les plans de croisement factoriels, plus performants pour estimer les paramètres génétiques (Dupont-Nivet et al., 2002) et les valeurs génétiques (Sonesson and Ødegård, 2016), pourraient permettre d'obtenir de très bonnes précisions avec des panels de SNPs à faible densité et en utilisant les phénotypes et génotypes des générations antérieures. Il pourrait être envisagé d'inclure environ quatre générations dans le modèle, en donnant la priorité aux générations récentes qui apportent plus d'informations pour améliorer la précision des valeurs génétiques

(GEBVs). Cependant, il est recommandé de ne pas « sauter » de générations lors du phénotypage et du génotypage, afin de garantir des résultats plus fiables (Sonesson and Meuwissen, 2009). Il convient de noter que cette indication reste dépendante de l'espèce étudiée et du caractère spécifique sous sélection. Par conséquent, des études supplémentaires sont nécessaires au sein de chaque population des entreprises de sélection ostréicoles pour mieux évaluer l'impact des générations prises en compte dans les modèles.

3.3. Gestion de la diversité génétique

Réduire les coûts de génotypage et optimiser la sélection génomique pour maintenir une bonne précision est important, mais il est tout aussi important de maintenir de la variabilité génétique dans les populations en sélection. En effet, il est essentiel pour les populations sélectionnées de conserver et d'améliorer leurs performances sur le long terme, en tenant compte des changements des techniques et de l'environnement d'élevage. Les entreprises de sélection ostréicoles françaises commercialisent leur naissain à des éleveurs chez lesquels les conditions d'élevage varient fortement, en France mais aussi à l'international. Maintenir une bonne diversité génétique permettra aux entreprises de sélection de s'adapter rapidement à d'éventuelles évolutions des objectifs de sélection dans le futur (différents environnements, nouvelles maladies). La gestion de la diversité génétique dans les populations en sélection est donc un enjeu majeur pour l'économie de ces entreprises. La baisse de variabilité génétique après les premières générations de sélection est une problématique majeure chez les huîtres en raison de la dérive génétique associée au déséquilibre des contributions parentales et de la forte dépression de consanguinité chez ces espèces (Boudry et al., 2002 ; Lallias et al., 2010 ; Launey and Hedgecock, 2001 ; Plough, 2016). Il est donc important pour les sélectionneurs de déterminer la volonté de maximiser la réponse à la sélection à court ou à long terme. La mise en place d'une sélection sur pedigree optimisant les contributions (OCS) des reproducteurs à la génération suivante, mise en place par le SYSAAF, semble avoir efficacement limité l'augmentation de la consanguinité à moins de 1% au cours des deux dernières générations de sélection des populations commerciales (voir Chapitre 2, section 3.2). L'OCS s'appuie sur la relation de parenté entre les animaux, ce qui permet de l'appliquer soit en se basant sur le pedigree, soit en utilisant la similarité

génomique. Cependant, elle se révèle plus efficace lorsqu'elle est basée sur cette dernière (Meuwissen, 2009). Avec le développement des marqueurs génomiques, différentes mesures permettent d'obtenir la ressemblance génomique. Meuwissen et al. (2020) ont comparé trois méthodes fréquemment utilisées : l'état homozygote/hétérozygote (par exemple, matrice de parenté moléculaire) ; la dérive génétique, c'est-à-dire les changements de fréquence des allèles ; ou basé sur l'IBD (« *identity-by-descent* »), c'est-à-dire en identifiant des segments IBD pour gérer localement la diversité génétique. Les auteurs ont établi que l'approche optimale consistait à prendre en compte les segments d'IBD dans le but de minimiser à la fois la dérive génétique et le taux de consanguinité. Cette approche permettait également d'obtenir le meilleur gain génétique en fonction du taux de consanguinité ciblé sur 20 générations.

Bien que la gestion de la diversité génétique soit essentielle dans les plans de croisement, il est important de prendre en compte que d'autres facteurs peuvent influencer cette diversité tout au long du parcours zootechnique des huîtres. Par exemple, les protocoles de croisement, (induction d'émission des gamètes, stripping) en ne distinguant pas entre les gamètes matures ou immatures présents dans les gonades, peuvent induire une variabilité du taux de développement (Tanyaros et Tarangkoon, 2016) ; les manipulations des densités de gamètes et de leur qualité qui peuvent engendrer une variance dans la contribution des parents (Song et al., 2009) ; la sélection sur la taille au cours du développement en éliminant les plus petites larves par tamisage (Taris et al., 2007), les protocoles de fixation (induction par neurotransmetteur, ajout de micro-brisure, température, nourriture, qualité et taux de renouvellement de l'eau de mer...) et la mortalité pendant la métamorphose (Plough and Hedgecock, 2011) sont autant de pratiques qui peuvent influencer sur la diversité génétique. La mesure dans laquelle ces processus influencent la réponse à la sélection et, par conséquent, le potentiel d'amélioration génétique des organismes, représente une lacune importante dans les connaissances relatives à la sélection ostréicole. En conséquence, il est possible que la diversité génétique soit réduite au cours de l'élevage, ce qui pourrait affecter l'efficacité de la gestion des programmes d'élevage existants, avec des conséquences pour le développement de cette industrie. Il est important de mener des études approfondies afin d'évaluer plus précisément les impacts des pratiques d'élevage des éclosiers sur la constitution génétique et phénotypique des populations, ainsi que leurs implications à long

terme pour la production des huîtres (Nascimento-Schulze et al., 2021). En effet, les larves d'huîtres élevées en éclosérie bénéficient d'un environnement contrôlé qui prévient les risques liés au milieu ouvert. Les paramètres de qualité de l'eau sont maintenus de manière optimale pour favoriser la survie et la croissance des huîtres, ce qui augmente les rendements de production. À long terme, la domestication contribue à améliorer les performances dans ces environnements d'élevage. Cependant, il est important de noter que la sélection pour la domestication peut réduire la résistance environnementale lorsque les animaux sont exposés à des conditions naturelles comme observé chez le poisson (Araki et al., 2008). Chez *C. virginica* une étude indique que les larves d'huîtres issues d'un programme de sélection sont moins capables de tolérer une limitation prolongée de la nourriture, entraînant des taux de mortalité plus élevés (McFarland et al., 2020). Une amélioration de la compréhension et du contrôle des mécanismes génomiques liés à la sélection de la domestication est donc essentielle pour une gestion plus efficace des populations d'huîtres en sélection.

3.4. Résistance aux maladies

Les résultats de cette thèse montrent que la sélection génomique est une approche prometteuse pour améliorer la résistance aux maladies chez l'huître creuse, notamment aux deux agents pathogènes majeurs touchant la production ostréicole française. La faisabilité de l'application d'un protocole expérimental par cohabitation pour effectuer la sélection génomique a été démontrée, même dans une situation de coinfection par plusieurs agents pathogènes. Cependant, pour que cette approche puisse être concrètement mise en œuvre dans les entreprises de sélection ostréicoles, il est nécessaire de valider certaines conditions préalables essentielles.

3.4.1. Paramètres complémentaires

3.4.1.1. Comparaison des résultats avec des animaux testés sur le terrain

Tout d'abord, pour orienter au mieux le choix des entreprises de sélection ostréicoles et avant d'appliquer ce type de challenge en routine en population commerciale, il est nécessaire de comparer les résultats de survie aux trois challenges obtenus en condition expérimentale avec

la survie des animaux sur le terrain. Dans le Chapitre 3, une partie des animaux des mêmes 100 familles et ayant le même parcours zootechnique a été mis en élevage sur le terrain dans le bassin de Marennes-Oléron. Ces huîtres ont été exposées à deux périodes estivales avec un potentiel d'infection aux agents pathogènes rencontrés dans le milieu mais les données de génotypage ne sont pas disponibles pour le moment. Cependant, une autre étude préalable donne un aperçu de ce qu'il est possible d'obtenir comme résultats (Azéma et al., 2017). Cette étude s'est basée sur une population de 40 familles de pleins frères élevées en familles séparées et qui ont été échantillonnées plusieurs fois sur une période d'environ 2 ans. Les familles ont été soumises soit à dix infections expérimentales dans des conditions contrôlées (à cinq âges différents et en utilisant chacun des deux agents pathogènes utilisés dans le cadre de cette thèse), soit à trois expositions non contrôlées à des maladies dans trois environnements d'élevages fréquemment utilisés par les ostréiculteurs (parc à huître, bassins et raceways) (Azéma et al., 2017). Les auteurs indiquent que les estimations de corrélations génétiques entre la survie des huîtres testées sur le terrain et celles exposées à l'infection par OsHV-1 en conditions contrôlées étaient toutes positives et élevées, indépendamment du stade de vie. Les valeurs de corrélation variaient de 0,77 à 1,05. De manière similaire, des corrélations génétiques positives même si moins élevées ont été observées entre la survie des juvéniles en raceways et leur survie face aux challenges expérimentaux induits par *V. aestuarianus*, quel que soit le stade de vie, avec des valeurs de corrélation allant de 0,40 à 0,84. Cependant, une corrélation génétique de 0,23 a été observée pour la survie entre l'infection sur le terrain (en présence d'OsHV-1) et le challenge en raceway en présence de *V. aestuarianus*, mais cette corrélation n'était pas statistiquement significative (Azéma et al., 2017). Il est alors envisageable que dans le cadre du projet de cette thèse, nous obtenions des résultats similaires avec une forte corrélation entre les challenges OsHV-1 et sur le terrain et une faible voire une corrélation génétique nulle entre les challenges *V. aestuarianus* et sur le terrain. En ce qui concerne la coinfection, les connaissances limitées actuellement disponibles ne permettent pas de prédire de manière précise la corrélation génétique avec la survie sur le terrain. Ces résultats nous donneront plus d'informations sur les conditions d'infections rencontrées par cette population au cours de ces deux années exposées sur le terrain et si des challenges de coinfection sont pertinents pour l'amélioration génétique des huîtres produites dans cette zone d'élevage.

3.4.1.2. Prise en compte de la corrélation entre la survie et les caractères de croissance

Les caractères de croissance et de résistance aux maladies sont des objectifs prioritaires pour les entreprises de sélection ostréicole. La prise en compte des corrélations génétiques entre les différents caractères est donc essentielle pour estimer le progrès génétique qui peut être attendu. Azéma et al. (2017) ont démontré que la sensibilité à l'infection par OsHV-1 diminue avec l'âge et la croissance, tandis que la sensibilité à l'infection par *V. aestuarianus* augmente en fonction des mêmes facteurs ; indiquant une implication des caractères de croissance dans la résistance aux maladies. Malheureusement, les données de croissance n'ont pas été mesurées sur les animaux génotypés dans notre étude. En revanche, des articles précédents (sur différents sites en Chine et en France) révèlent une corrélation génétique faible et positive (inférieure à 0,27) entre la survie sur le terrain et la croissance (Chi et al., 2022, 2021 ; Dégremont et al., 2007). Des estimations similaires (inférieures à 0,38) ont été obtenues avec la résistance à *V. alginolyticus* (Zhai et al., 2021). Cela indique la faisabilité d'une amélioration génétique simultanée des caractères de croissance et de résistance aux agents pathogènes. Par ailleurs, les facteurs de croissance pourraient être pris en compte comme des co-variables ou comme un second phénotype dans un modèle à deux caractères, afin d'améliorer la prédiction des valeurs génétiques (Calus and Veerkamp, 2011) ou de mieux localiser les QTLs impliqués. De plus, cette approche pourrait faciliter la détection de nouveaux QTLs liés aux résistances aux maladies.

3.4.2. Application dans les entreprises

Il sera nécessaire de tester les challenges infectieux avec des animaux provenant des programmes de sélection afin de déterminer si la variabilité génétique et l'héritabilité sont adéquates dans les différentes populations d'écloseries françaises. Cette étape est cruciale avant de mettre en œuvre ces protocoles d'infection en routine.

3.4.2.1. Protocole d'infection

Bien que le protocole de cohabitation utilisé dans cette thèse ait été efficace dans notre étude, ce n'est pas le seul envisageable. En effet, certaines études utilisent l'injection de suspensions bactériennes ou virales directement dans le muscle adducteur de l'huître pour infecter les animaux. L'avantage de ce type d'infection est qu'il permet de mettre en contact une quantité définie d'agent pathogène pour chaque individu. Cependant ce protocole ne reproduit pas le mode d'infection que rencontre l'huître et modifie donc potentiellement le type de phénotype enregistré. En effet, l'injection de l'agent pathogène directement à l'intérieur de l'organisme permet de passer les premières barrières de défense telles que le système digestif, les branchies, le mucus et l'épithélium. Azéma et al. (2015) ont observé de fortes mortalités et peu de variance dans la survie à *V. aestuarianus* dans différentes lignées d'huîtres injectées d'une suspension bactérienne, au contraire d'un testage par un protocole de cohabitation. Cela indique que les mécanismes de défense responsables de la résistance diffèrent (en partie) entre les deux protocoles. Par conséquent, il serait possible d'envisager une sélection basée sur un protocole d'injection de pathogènes et d'étudier l'architecture génétique de ce trait. Ainsi, deux sélections distinctes pour améliorer la résistance à une maladie pourraient être mises en place afin d'augmenter les chances de résister aux deux types d'infections et d'améliorer la survie globale de la population. En ce qui concerne la résistance à OsHV-1, plusieurs études (de Lorgeril et al., 2020, 2018 ; Delisle et al., 2022 ; Petton et al., 2021b) ont démontré que ce virus est l'agent déclencheur des épisodes de mortalité en compromettant l'état immunitaire, ce qui permet le développement de bactéries opportunistes, causes présumées de la mort des animaux. Il a été également constaté que les individus présentant une résistance accrue à l'infection par OsHV-1 étaient caractérisés par une réponse immunitaire rapide, ce qui leur permet de réguler la réplication virale. Dans le contexte de la mise en place de la sélection génomique pour la résistance aux maladies, il serait préconisé d'adopter un protocole de cohabitation plutôt que d'injection. Cette approche permettrait d'effectuer une sélection des individus présentant une réponse immunitaire rapide, favorisant ainsi le contrôle de la réplication virale et prévenant une propagation incontrôlée du virus, ce qui pourrait affecter des huîtres plus sensibles. De plus, ce protocole favoriserait indirectement la résistance à d'autres agents infectieux en maintenant un système immunitaire efficace.

3.4.2.2. Différentes souches d'agents pathogènes

Il est important de noter que les résultats obtenus sont valables seulement pour les agents pathogènes testés mais plus spécifiquement pour les souches étudiées. Les souches des deux agents pathogènes utilisés dans notre étude étaient connues pour leur forte virulence. Cependant, toutes n'ont pas la même virulence pour *V. aestuarianus* (Travers et al., 2017) et pour OsHV-1 (Divilov et al., 2019). Même si l'évolution du virus semble être lente avec une faible diversité génétique (Delmotte, 2021), maintenant le niveau de virulence, les mouvements d'animaux sont toujours susceptibles d'apporter de nouvelles souches dans les zones de production. Divilov et al. (2019) ont montré des corrélations génétiques faibles (< 0,24) ou non significatives entre la résistance à une souche française de OsHV-1 μ var (C-25) et la résistance à la souche californienne OsHV-1 (C-89). L'amélioration génétique des populations françaises face à la souche endémique française d'OsHV-1 ne semble donc pas conférer d'avantage significatif en termes de résistance accrue à la souche virale américaine, laissant ainsi subsister un risque potentiel en cas d'introduction de la souche américaine en France et de réciproquement en cas d'introduction de la souche française aux États-Unis d'Amérique. De nouvelles études pourraient être menées pour déterminer la possibilité d'amélioration de la survie aux différentes souches grâce à la sélection génomique. Cela pourrait également être étendu aux autres agents pathogènes de l'huître fréquemment détectés lors d'épisodes de mortalités comme les bactéries *Vibrio* du clade *splendidus* ou *V. harveyi* et *V. crassostreae* (Dégremont et al., 2015b ; Petton et al., 2021b) ainsi qu'aux agents pathogènes détectés dans les écloséries et dans les nurseries qui ont été testés dans Dégremont et al. (2021). En effet, des publications récentes mettent en évidence la responsabilité d'autres bactéries du genre *Vibrio* dans la mortalité des huîtres de taille commerciale (de Lorgeril et al., 2020 ; Delisle et al., 2022 ; Vezzulli et al., 2015) mais aussi dans les écloséries notamment à cause d'un faible renouvellement de l'eau ou de systèmes de circuit fermé pouvant favoriser les mortalités liées aux bactéries (Dubert et al., 2017, 2016 ; Prado et al., 2015). Toutefois, il est important de noter que les *Vibrio* ne sont pas les seules bactéries systématiquement associées à la mortalité des huîtres (Delisle et al., 2022 ; Lasa et al., 2019 ; Petton et al., 2019). Des observations ont révélé l'existence d'une infection bactérienne secondaire impliquant des bactéries appartenant à d'autres genres (de Lorgeril et al., 2018). Ces résultats montrent que les infections bactériennes sont complexes et

impliquent toute une communauté bactérienne de l'hôte et de son environnement (Petton et al., 2021b). Enfin, cela pourrait aussi être testé en étudiant la résistance à certains parasites tels que *Haplosporidium costale*, qui a causé des mortalités à l'échelle mondiale et a récemment été associé à de faibles mortalités chez *C. gigas* en France (Arzul et al., 2022).

3.5. Développement d'outils collectifs

Il serait utile pour les entreprises de sélection ostréicoles de disposer d'infrastructures dédiées à l'expérimentation, spécifiquement conçues pour étudier la résistance aux maladies. Ces installations devraient être rigoureusement isolées des zones de production afin d'éviter tout risque de contamination de l'environnement qui pourrait compromettre les productions d'huîtres. Une approche envisageable serait de recourir à des plateformes d'expérimentation spécialisées, similaires à celles utilisées dans le domaine de la sélection génomique chez les poissons. La plateforme de recherche Fortior Genetics, créée en 2017 en partenariat avec le SYSAAF et l'ANSES, située à Plouzané (29), constitue un exemple de réussite dans le domaine du phénotypage des poissons en ce qui concerne leur résistance aux maladies. Ces plateformes offrent des environnements contrôlés et sécurisés, où des études sur la résistance aux maladies ou à différentes conditions environnementales peuvent être menées sans risque de contamination externe et en routine. Cela serait d'autant plus intéressant pour appliquer une sélection sur des animaux qui ne peuvent pas être testés et déployés sur le terrain comme les huîtres tétraploïdes. L'externalisation de ces challenges expérimentaux vers des plateformes spécialisées permettrait aux écloseries de mutualiser les coûts, tout en bénéficiant de l'ensemble des résultats et des connaissances générées par ces expérimentations.

Sur le même principe, d'autres outils pourraient être mis en commun pour réduire les investissements. Par exemple, en poursuivant le développement de logiciels permettant des mesures automatisées en se basant sur les programmes développés au cours de cette thèse (Jourdan et al., 2021 ; Annexe 1) et en intégrant des nouvelles analyses de couleur ou de forme en trois dimensions. Également, des résultats encourageants ont été obtenus en mesurant le poids de chair prédit par IRM sur les mêmes individus des populations commerciales étudiées (Annexe 3). Des corrélations élevées ont été observées entre le poids

de chair prédit et le poids de chair mesuré ($R^2=0,87$). De plus, une corrélation génétique très forte de 0,94 et des héritabilités similaires de 0,22 ont été identifiées entre ces deux caractères. Même s'il est nécessaire de rechercher des méthodes permettant d'augmenter le débit d'acquisition des données et de faciliter l'utilisation de cette technique, les résultats obtenus ainsi que l'avantage d'obtenir ces phénotypes de manière non létale constituent des arguments favorables à la réflexion en faveur du développement d'une plateforme commune permettant ce type de mesure.

4. Perspectives

4.1. Interactions génotype × environnement

Les huîtres creuses sont exposées à une forte variabilité environnementale dans les zones côtières, ce qui nécessite une adaptation génétique aux conditions extrêmes et/ou des réponses physiologiques plastiques pour se développer. Leur capacité à réguler les gènes de réponse au stress et leur expansion de familles de gènes liées aux réponses immunitaires suggèrent une adaptation réussie à la vie sessile dans des environnements fluctuants (Zhang et al., 2012), et la compréhension de ces mécanismes de plasticité peut améliorer les performances d'élevage (Nascimento-Schulze et al., 2021).

Les caractères importants sur le plan économique sont souvent complexes et influencés par de nombreux gènes, l'environnement et l'interaction entre les deux ($G \times E$). Des systèmes de production et des climats différents peuvent induire des interactions $G \times E$ sur les populations, et il est impératif de prendre en compte ces interactions dans les décisions de sélection. Une interaction $G \times E$ est définie comme une réaction inégale de différents génotypes aux changements environnementaux (Falconer and Mackay, 1996). Lorsque les animaux d'un programme de sélection sont élevés dans des environnements différents, il peut en résulter un reclassement des familles ou des génotypes. Cela peut avoir un impact négatif sur le gain génétique et l'efficacité d'un programme de sélection (Nascimento-Schulze et al., 2021 ; Song et al., 2023). Au sein de la filière ostréicole française, les entreprises de sélection fournissent du naissain au différentes zones de grossissement (Atlantique, Manche et Méditerranée), ainsi qu'à d'autres pays en Europe et dans le monde. L'environnement des zones d'élevage

peut être très différent entre les sites de production (position sur l'estran, température, pollution de l'eau, nourriture, salinité ou encore les systèmes de production). Falconer et Mackay, (1996) ont identifié les interactions $G \times E$ en utilisant un modèle multi-caractères, où un même caractère dans différents environnements est considéré comme des caractères distincts, et la corrélation génétique entre les caractères dans différents environnements est utilisée comme mesure de $G \times E$. Ces effets ont été observés dans quelques études précédentes ayant examiné la variabilité des performances de l'espèce *C. gigas* au sein de différentes familles dans divers sites d'élevage. Dans certains cas, les génotypes sélectionnés présentent une meilleure performance dans certaines conditions, mais leur performance diminue lorsqu'ils sont soumis à d'autres conditions (Dégremont et al., 2005 ; Evans and Langdon, 2006b ; Langdon et al., 2003). Cela indique un reclassement des génotypes en fonction de l'environnement et met en évidence l'effet intrinsèque du $G \times E$ sur la performance globale d'une famille ou d'une cohorte (Ernande et Dieckmann, 2004). Une étude très récente a montré que les interactions $G \times E$ pour la survie entre trois sites en Chine étaient faibles, ce qui suggère que les familles supérieures évaluées dans un site d'élevage devraient être supérieures dans d'autres sites. Cependant, il y a eu un reclassement substantiel montré par des corrélations génétiques de 0,22-0,87 dans les caractères de croissance, de rendement et de forme de la coquille (Chi et al., 2023). Les populations d'huîtres commerciales étudiées au cours de cette thèse ont été élevées dans des zones d'élevage distinctes. Bien que les phénotypes et leurs méthodes d'acquisition aient été identiques entre les deux populations, des différences ont été observées tant au niveau des phénotypes que des estimations d'héritabilité, principalement pour les caractères de couleur (voir Chapitre 2, Article 1, Table 2 et Table 5). Ces différences pourraient être expliquées non seulement par des facteurs génétiques, mais aussi par des interactions avec l'environnement, qui favoriseraient ou défavoriseraient l'expression des caractères en fonction de la population concernée. Par conséquent, les interactions $G \times E$ doivent être prises en compte et plus explorées dans les modèles de sélection génomique dans les populations commerciales françaises d'huîtres creuses.

4.2. Polyplœdie

L'induction de la triploïdie entraîne d'importantes modifications de l'expression des phénotypes génétiquement déterminés (Dheilly et al., 2014 ; Li et al., 2022). Il a été montré que les individus triploïdes sont significativement plus polymorphes que les diploïdes quelle que soit la méthode d'induction de la triploïdie (Magoulas et al., 2000).

Osborn et al. (2003) ont montré que la polyplœdie pouvait affecter les phénotypes par le biais du dosage allélique : effet additif des différentes copies des mêmes allèles. L'estimation des valeurs génétiques chez les espèces polyplœides nécessite une attention particulière en raison de la complexité de la ségrégation polysomique ou disomique (Bourke et al., 2018). La « simplification » d'un génotype polyplœide à un génotype diploïde ne permet donc pas une sélection précise à cause de nouvelles interactions et d'effets de substitution d'allèles par exemple. Les méthodes de sélection génomique doivent donc être adaptées pour l'amélioration des performances des triploïdes ou des tétraploïdes, étant donné que les études et les théories disponibles sont largement basées sur les diploïdes (Song et al., 2023).

Dans une étude par simulation sur des populations d'esturgeon de différents niveaux de ploïdies, Song and Hu, (2022b) ont montré qu'une plus grande précision de la prédiction génomique pouvait être obtenue par GBLUP en tenant compte du dosage des allèles en cas d'autopolyplœdie.

À l'heure actuelle, grâce à l'avancement des techniques de séquençage, il est désormais envisageable d'effectuer le génotypage des organismes aquacoles polyplœides. Cependant, il reste encore à développer des méthodes qui permettent une discrimination efficace des génotypes et une assignation de parenté fiable. De plus, les matrices de ressemblances génomiques doivent être repensées pour prendre en compte l'ajout d'un ou plusieurs chromosomes provenant du père ou de la mère, en fonction du protocole suivi pour induire la polyplœdie. Par conséquent, le dosage des allèles est une voie prometteuse à prendre en compte dans la prédiction génomique pour la polyplœdie mais qui nécessite encore des études plus approfondies avant d'être appliqué.

4.3. Développer des techniques précises de phénotypage

L'optimisation des programmes de sélection en réduisant le nombre de marqueurs utilisés ou en ajustant le nombre d'individus dans la population d'entraînement conduira à une diminution des coûts. Ces budgets pourraient être utilisés pour financer la recherche et le développement de techniques précises de phénotypage. En effet, la précision des mesures des caractères phénotypiques a un impact direct sur la précision de la sélection génomique, ce qui a une influence sur le gain génétique réalisé à chaque génération. Les méthodes de mesures manuelles classiques peuvent être influencées par de nombreux facteurs comme l'expérience, les habitudes, les préférences personnelles et l'influence de l'environnement externe, ce qui peut rendre l'étape de phénotypage fastidieuse et peu précise. De nouvelles approches de phénotypage émergent dans le domaine de l'aquaculture, en exploitant des technologies telles que l'apprentissage automatique, l'intelligence artificielle (Li and Du, 2022 ; Zhao et al., 2021), l'imagerie hyperspectrale et la spectroscopie dans le proche infrarouge (Zhang et al., 2020). Ces méthodes permettent une quantification précise des caractéristiques physiques (comme la taille, le poids et la couleur) ainsi que des caractéristiques chimiques (tels que les protéines, les graisses et les acides gras insaturés) avec généralement des bonnes précisions de prédiction (> 80%) chez les organismes aquatiques (Saberioon et al., 2017) et peuvent être appliqués chez les huîtres.

Le sexe de l'huître est une difficulté à prendre en compte chez les huîtres dans les programmes de sélection. Actuellement le sexe d'un individu est connu seulement au moment de la reproduction, lorsque le tissu gonadique s'est développé et que l'individu est mature. En effet son sexe ne peut être défini qu'au moment de l'ouverture par observation microscopique, étant donné qu'il peut avoir changé de sexe au cours de l'année. Des études montrent la faisabilité de sexer les huîtres de manière non invasive grâce à l'imagerie par résonance magnétique (IRM) avec une bonne précision (Davenel et al., 2006 ; Li et al., 2010). Son testage en population commerciale a aussi montré de bons résultats avec une bonne prédiction du sexe à 97% (Quellec et al., *comm pers*). Toutefois, son utilisation pratique n'est pas encore envisageable en raison des exigences logistiques et/ou de l'investissement matériel considérables qu'il demande. Néanmoins, il représente une piste prometteuse à explorer, car il permettrait de prédire le sexe des individus à l'avance, ce qui permettrait d'établir en amont un plan de croisement et potentiellement d'intensifier la pression de

sélection sur les candidats afin d'accroître les gains génétiques. Une amélioration génétique efficace des populations commerciales d'huîtres en France devrait être rendue possible grâce à l'utilisation combinée du phénotypage à haut débit et à haute résolution dans les programmes d'élevage, ainsi que de la sélection génomique.

5. Conclusions

Nous avons montré qu'il était possible d'utiliser pour l'huître creuse la puce bi-espèce Axiom Affymetrix 57K SNP pour développer la sélection génomique de caractères de croissance et de qualité dans des programmes de sélection commerciale en famille mélangée. Cependant, cet outil est limité par une mauvaise répartition des marqueurs le long du génome et il est nécessaire de développer l'outil de génotypage et ainsi de permettre une meilleure efficacité de son utilisation. Nous avons également exploré les bases génomiques de la résistance à une coinfection par une bactérie (*V. aestuarianus*) et un virus (OsHV-1) en comparant à une infection simple à chaque agent pathogène. Comme pour beaucoup d'espèces et sur de nombreux caractères, la sélection génomique s'est révélée plus performante qu'une sélection basée sur le pedigree dans la grande majorité des caractères étudiés (croissance, qualité, résistance). La sélection génomique sur la coinfection par un protocole de cohabitation est une nouvelle méthode développée qui devrait améliorer la résistance des huîtres aux maladies présentes dans l'environnement. Cela reste à être confirmé par confrontation avec l'acquisition des données d'huîtres déployées sur le terrain. L'ensemble des phénotypes ont montré une architecture polygénique même si quelques QTLs ont été détectés pour des caractères de couleur et de résistance à OsHV-1 et à la coinfection. Les limites évoquées de la puce à SNP ne permettent pas de positionner précisément les QTLs et le passage à une plus forte densité de marqueurs est requis pour améliorer la précision.

L'amélioration génétique de la résistance aux maladies doit encore être appliquée en population commerciale et devrait être considérée simultanément aux autres caractères d'intérêt comme la croissance et le rendement en chair. Des études plus poussées sur l'optimisation de la sélection génomique par réduction du nombre de marqueurs et définitions de la taille optimale de la population de référence doivent être menées. Il semble aussi primordial de développer l'étude des interactions G x E dans différentes zones de

production et différentes méthodes d'élevage. Enfin, il faut poursuivre les investissements de développement d'outils permettant l'évaluation génomique d'animaux polyploïdes.

Pour chaque espèce où elle a pu être appliquée, la sélection génomique a été un progrès considérable. Le SYSAAF et ses sélectionneurs adhérents ont déjà entamé la transition pour son application dans les schémas de sélection ostréicole. Les résultats acquis au cours de cette thèse, intégrant toutes les considérations évoquées pour l'optimisation de la sélection, permettent d'accompagner ces écloséries françaises vers ces nouvelles méthodes de sélection.

REFERENCES (hors publications)

- Agreste, 2020. Enquête Aquaculture [WWW Document]. URL <https://agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/disaron/Chd2116/detail/> (accessed 5.21.23).
- Aguilar, I., Misztal, I., Tsuruta, S., Legarra, A., Wang, H., 2014. PREGSF90 – POSTGSF90: Computational Tools for the Implementation of Single-step Genomic Selection and Genome-wide Association with Ungenotyped Individuals in BLUPF90 Programs. Presented at the 10. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP), American Society of Animal Science.
- Ahmed, M., Sparks, A.K., 1967. A Preliminary Study of Chromosomes of Two Species of Oysters (*Ostrea lurida* and *Crassostrea gigas*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* 24, 2155–2159. <https://doi.org/10.1139/f67-175>
- Alfaro, A.C., Nguyen, T.V., Merien, F., 2019. The complex interactions of Ostreid herpesvirus 1, *Vibrio* bacteria, environment and host factors in mass mortality outbreaks of *Crassostrea gigas*. *Reviews in Aquaculture* 11, 1148–1168. <https://doi.org/10.1111/raq.12284>
- Allam, B., Raftos, D., 2015. Immune responses to infectious diseases in bivalves. *Journal of Invertebrate Pathology, Pathogens and Disease Processes in Marine Molluscs* 131, 121–136. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.05.005>
- Allen, S.K., Downing, S.L., 1986. Performance of triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg). I. Survival, growth, glycogen content, and sexual maturation in yearlings. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 102, 197–208. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(86\)90176-0](https://doi.org/10.1016/0022-0981(86)90176-0)
- Allison, E.H., Badjeck, M.-C., Meinhold, K., 2011. The Implications of Global Climate Change for Molluscan Aquaculture, in: *Shellfish Aquaculture and the Environment*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 461–490. <https://doi.org/10.1002/9780470960967.ch17>
- AR6 Synthesis Report: Climate Change 2023 — IPCC, n.d. URL <https://www.ipcc.ch/report/sixth-assessment-report-cycle/> (accessed 6.24.23).
- Araki, H., Berejikian, B.A., Ford, M.J., Blouin, M.S., 2008. Fitness of hatchery-reared salmonids in the wild. *Evolutionary Applications* 1, 342–355. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2008.00026.x>
- Arzul, I., Corbeil, S., Morga, B., Renault, T., 2017. Viruses infecting marine molluscs. *Journal of Invertebrate Pathology, Invertebrate Viruses and the Food Chain* 147, 118–135. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2017.01.009>
- Arzul, I., Garcia, C., Chollet, B., Serpin, D., Lupo, C., Noyer, M., Tourbiez, D., Berland, C., Dégremont, L., Travers, M.-A., 2022. First characterization of the parasite *Haplosporidium costale* in France and development of a real-time PCR assay for its rapid detection in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Transboundary and Emerging Diseases* 69, e2041–e2058. <https://doi.org/10.1111/tbed.14541>
- Arzul, I., Nicolas, J.-L., Davison, A.J., Renault, T., 2001a. French Scallops: A New Host for Ostreid Herpesvirus-1. *Virology* 290, 342–349. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1186>
- Arzul, I., Renault, T., Lipart, C., 2001b. Experimental herpes-like viral infections in marine bivalves: demonstration of interspecies transmission. *Diseases of Aquatic Organisms* 46, 1–6. <https://doi.org/10.3354/dao046001>
- Arzul, I., Renault, T., Lipart, C., Davison, A.J., 2001c. Evidence for interspecies transmission of oyster herpesvirus in marine bivalves. *Journal of General Virology* 82, 865–870. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-82-4-865>
- Arzul, I., Renault, T., Thébault, A., Gérard, A., 2002. Detection of oyster herpesvirus DNA and proteins in asymptomatic *Crassostrea gigas* adults. *Virus Research* 84, 151–160. [https://doi.org/10.1016/S0168-1702\(02\)00007-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1702(02)00007-2)
- Azéma, P., Lamy, J.-B., Boudry, P., Renault, T., Travers, M.-A., Dégremont, L., 2017. Genetic parameters of resistance to *Vibrio aestuarianus*, and OsHV-1 infections in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, at three different life stages. *Genet Sel Evol* 49, 23. <https://doi.org/10.1186/s12711-017-0297-2>

- Azéma, P., Travers, M.-A., Benabdelmouna, A., Dégremont, L., 2016. Single or dual experimental infections with *Vibrio aestuarianus* and OsHV-1 in diploid and triploid *Crassostrea gigas* at the spat, juvenile and adult stages. *Journal of Invertebrate Pathology* 139, 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.08.002>
- Azéma, P., Travers, M.-A., De Lorgeril, J., Tourbiez, D., Dégremont, L., 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. *Veterinary Research* 46, 139. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0282-0>
- Bai, C., Wang, C., Xia, J., Sun, H., Zhang, S., Huang, J., 2015. Emerging and endemic types of Ostreid herpesvirus 1 were detected in bivalves in China. *Journal of Invertebrate Pathology* 124, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2014.11.007>
- Bailey, G., Milner, N., 2008. Molluscan archives from European Prehistory. *British Archaeological Reports International Series*. pp. 111–134.
- Baker, G.L., 2016. Food Safety Impacts from post-harvest processing procedures of molluscan shellfish. *Foods* 5, 29. <https://doi.org/10.3390/foods5020029>
- Barbier P, Béchade M, Bodin P, Oudot G (2021) Suivi interrégional des performances d'élevage de naissain d'huître creuse en Charente-Maritime - Bilan annuel 2021. CAPENA, 10 p
- Barbieri, E.S., Medina, C.D., Vázquez, N., Fiorito, C., Martelli, A., Wigdorovitz, A., Schwindt, E., Morga, B., Renault, T., Parreño, V., Barón, P.J., 2019. First detection of Ostreid herpesvirus 1 in wild *Crassostrea gigas* in Argentina. *Journal of Invertebrate Pathology* 166, 107222. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.107222>
- Barbosa Solomieu, V., Renault, T., Travers, M.-A., 2015. Mass mortality in bivalves and the intricate case of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Journal of Invertebrate Pathology, Pathogens and Disease Processes in Marine Molluscs* 131, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.011>
- Barbosa-Solomieu, V., Dégremont, L., Vázquez-Juárez, R., Ascencio-Valle, F., Boudry, P., Renault, T., 2005. Ostreid Herpesvirus 1 (OsHV-1) detection among three successive generations of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Virus Research* 107, 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2004.06.012>
- Batista, F.M., López-Sanmartín, M., Grade, A., Morgado, I., Valente, M., Navas, J.I., Power, D.M., Ruano, F., 2015. Sequence variation in ostreid herpesvirus 1 microvar isolates detected in dying and asymptomatic *Crassostrea angulata* adults in the Iberian Peninsula: Insights into viral origin and spread. *Aquaculture* 435, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.016>
- Bayne, B.L., 1965. Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* (L.). *Ophelia* 2, 1–47. <https://doi.org/10.1080/00785326.1965.10409596>
- Bayne, B.L., Ahrens, M., Allen, S.K., D'auriac, M.A., Backeljau, T., Beninger, P., Bohn, R., Boudry, P., Davis, J., Green, T., Guo, X., Hedgecock, D., Ibarra, A., Kingsley-Smith, P., Krause, M., Langdon, C., Lapègue, S., Li, C., Manahan, D., Mann, R., Perez-Paralle, L., Powell, E.N., Rawson, P.D., Speiser, D., Sanchez, J.-L., Shumway, S., Wang, H., 2017. The Proposed Dropping of the Genus *Crassostrea* for All Pacific Cupped Oysters and Its Replacement by a New Genus *Magallana*: A Dissenting View. *shre* 36, 545–547. <https://doi.org/10.2983/035.036.0301>
- Beaz-Hidalgo, R., Balboa, S., Romalde, J.L., Figueras, M.J., 2010. Diversity and pathogenicity of *Vibrio* species in cultured bivalve molluscs. *Environmental Microbiology Reports* 2, 34–43. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2010.00135.x>
- Benabdelmouna, A., Ledu, C., 2015. Autotetraploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) obtained using normal diploid eggs: induction and impact on cytogenetic stability. *Genome* 58, 333–348. <https://doi.org/10.1139/gen-2015-0014>
- Berthelin, C.H., Laisney, J., Espinosa, J., Martin, O., Hernandez, G., Mathieu, M., Kellner, K., 2001. Storage and reproductive strategy in *Crassostrea gigas* from two different growing areas (Normandy and the Atlantic coast, France). *Invertebrate Reproduction & Development* 40, 79–86. <https://doi.org/10.1080/07924259.2001.9652500>

- Bierne, N., Launey, S., Naciri-Graven, Y., Bonhomme, F., 1998. Early Effect of Inbreeding as Revealed by Microsatellite Analyses on *Ostrea edulis* Larvae. *Genetics* 148, 1893–1906. <https://doi.org/10.1093/genetics/148.4.1893>
- Botta, R., Asche, F., Borsum, J.S., Camp, E.V., 2020. A review of global oyster aquaculture production and consumption. *Marine Policy* 117, 103952. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2020.103952>
- Boudry, P., 2009. 3 - Genetic variation and selective breeding in hatchery-propagated molluscan shellfish, in: Burnell, G., Allan, G. (Eds.), *New Technologies in Aquaculture*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing, pp. 87–108. <https://doi.org/10.1533/9781845696474.1.87>
- Boudry, P., Allal, F., Aslam, M.L., Bargelloni, L., Bean, T.P., Brard-Fudulea, S., Briec, M.S.O., Calboli, F.C.F., Gilbert, J., Haffray, P., Lamy, J.-B., Morvezen, R., Purcell, C., Prodöhl, P.A., Vandeputte, M., Waldbieser, G.C., Sonesson, A.K., Houston, R.D., 2021. Current status and potential of genomic selection to improve selective breeding in the main aquaculture species of International Council for the Exploration of the Sea (ICES) member countries. *Aquaculture Reports* 20, 100700. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100700>
- Boudry, P., Barre, M., Gerard, A., 1997. Genetic improvement and selection in shellfish : a review based on oyster research and production. Presented at the Seminar on Genetics and Breeding in the Mediterranean Aquaculture Species CIHEAM-FAO,.
- Boudry, P., Collet, B., Cornette, F., Hervouet, V., Bonhomme, F., 2002. High variance in reproductive success of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg) revealed by microsatellite-based parentage analysis of multifactorial crosses. *Aquaculture, Genetics in Aquaculture VII* 204, 283–296. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00841-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00841-9)
- Bourke, P.M., Voorrips, R.E., Visser, R.G.F., Maliepaard, C., 2018. Tools for Genetic Studies in Experimental Populations of Polyploids. *Frontiers in Plant Science* 9.
- Broquard, C., 2019. Le déterminisme sexuel de l’huître *crassostrea gigas* : du phénotype aux facteurs moléculaires sous-jacents (phdthesis). Normandie Université.
- Broquard, C., Martinez, A.-S., Maurouard, E., Lamy, J.-B., Dégremont, L., 2020. Sex determination in the oyster *Crassostrea gigas* - A large longitudinal study of population sex ratios and individual sex changes. *Aquaculture* 515, 734555. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734555>
- Bruto, M., James, A., Petton, B., Labreuche, Y., Chenivesse, S., Alunno-Bruscia, M., Polz, M.F., Le Roux, F., 2017. *Vibrio crassostreae*, a benign oyster colonizer turned into a pathogen after plasmid acquisition. *ISME J* 11, 1043–1052. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.162>
- Buestel, D., Ropert, M., Prou, J., Gouilletquer, P., 2009. History, Status, and Future of Oyster Culture in France. *Journal of Shellfish Research* 28, 813–820. <https://doi.org/10.2983/035.028.0410>
- Bulmer, M.G., 1971. The Effect of Selection on Genetic Variability. *The American Naturalist* 105, 201–211. <https://doi.org/10.1086/282718>
- Burge, C.A., Griffin, F.J., Friedman, C.S., 2006. Mortality and herpesvirus infections of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in Tomales Bay, California, USA. *Diseases of Aquatic Organisms* 72, 31–43. <https://doi.org/10.3354/dao072031>
- Calus, M.P., Veerkamp, R.F., 2011. Accuracy of multi-trait genomic selection using different methods. *Genetic Selection Evolution* 43, 26. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-43-26>
- Camara, M., Symonds, J., 2014. Genetic improvement of New Zealand aquaculture species: programmes, progress and prospects. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 48, 466–491. <https://doi.org/10.1080/00288330.2014.932291>
- Camara, M.D., Yen, S., Kaspar, H.F., Kesarcodi-Watson, A., King, N., Jeffs, A.G., Tremblay, L.A., 2017. Assessment of heat shock and laboratory virus challenges to selectively breed for ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) resistance in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 469, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.11.031>

- Cantet, F., Hervio-Heath, D., Caro, A., Le Mennec, C., Monteil, C., Quéméré, C., Jolivet-Gougeon, A., Colwell, R.R., Monfort, P., 2013. Quantification of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and *Vibrio cholerae* in French Mediterranean coastal lagoons. *Research in Microbiology* 164, 867–874. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2013.06.005>
- Carrasco, N., Gairin, I., Pérez, J., Andree, K.B., Roque, A., Fernández-Tejedor, M., Rodgers, C.J., Aguilera, C., Furones, M.D., 2017. A Production Calendar Based on Water Temperature, Spat Size, and Husbandry Practices Reduce OsHV-1 μ var Impact on Cultured Pacific Oyster *Crassostrea gigas* in the Ebro Delta (Catalonia), Mediterranean Coast of Spain. *Frontiers in Physiology* 8.
- Carriker, M.R., 1956. Biology and Propagation of Young Hard Clams, *Mercenaria Mercenaria*. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society* 72, 57–60.
- Carvalho, R., Boison, S.A., Neves, H.H.R., Sargolzaei, M., Schenkel, F.S., Utsunomiya, Y.T., O'Brien, A.M.P., Sölkner, J., McEwan, J.C., Van Tassell, C.P., Sonstegard, T.S., Garcia, J.F., 2014. Accuracy of genotype imputation in Nelore cattle. *Genetics Selection Evolution* 46, 69. <https://doi.org/10.1186/s12711-014-0069-1>
- Chi, Y., Jiang, G., Liang, Y., Xu, C., Li, Q., 2022. Selective breeding for summer survival in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): Genetic parameters and response to selection. *Aquaculture* 556, 738271. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738271>
- Chi, Y., Li, Q., Liu, S., Kong, L., 2021. Genetic parameters of growth and survival in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture Research* 52, 282–290. <https://doi.org/10.1111/are.14891>
- Chi, Y., Li, Q., Xu, C., 2023. Genetic parameters and genotype by environment interactions for harvest traits in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquacult Int.* <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01159-8>
- Chen, Y., Xu, C., Li, Q., 2022. Genetic diversity in a genetically improved line of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* with orange shell based on microsatellites and mtDNA data. *Aquaculture* 549, 737791. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737791>
- Clegg, T.A., Morrissey, T., Geoghegan, F., Martin, S.W., Lyons, K., Ashe, S., More, S.J., 2014. Risk factors associated with increased mortality of farmed Pacific oysters in Ireland during 2011. *Preventive Veterinary Medicine* 113, 257–267. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.10.023>
- Clerissi, C., de Lorgeril, J., Petton, B., Lucasson, A., Escoubas, J.-M., Gueguen, Y., Dégremont, L., Mitta, G., Toulza, E., 2020. Microbiota Composition and Evenness Predict Survival Rate of Oysters Confronted to Pacific Oyster Mortality Syndrome. *Frontiers in Microbiology* 11.
- Clerissi, C., Luo, X., Lucasson, A., Mortaza, S., de Lorgeril, J., Toulza, E., Petton, B., Escoubas, J.-M., Dégremont, L., Gueguen, Y., Destoumieux-Garçon, D., Jacq, A., Mitta, G., 2023. A core of functional complementary bacteria infects oysters in Pacific Oyster Mortality Syndrome. *anim microbiome* 5, 26. <https://doi.org/10.1186/s42523-023-00246-8>
- Coen, L.D., Brumbaugh, R.D., Bushek, D., Grizzle, R., Luckenbach, M.W., Posey, M.H., Powers, S.P., Tolley, S.G., 2007. Ecosystem services related to oyster restoration. *Marine Ecology Progress Series* 341, 303–307. <https://doi.org/10.3354/meps341303>
- Colonese, A.C., Mannino, M.A., Bar-Yosef Mayer, D.E., Fa, D.A., Finlayson, J.C., Lubell, D., Stiner, M.C., 2011. Marine mollusc exploitation in Mediterranean prehistory: An overview. *Quaternary International, Shell Midden Research: An Interdisciplinary Agenda for the Quaternary and Social Sciences* 239, 86–103. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2010.09.001>
- Comai, L., 2005. The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nat Rev Genet* 6, 836–846. <https://doi.org/10.1038/nrg1711>
- Comps, M., 1988. Epizootic diseases of oysters associated with viral infections. *American Fisheries Society Special Publication* 18, 23–37. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00000/5912/>
- Coustau, C., Kurtz, J., Moret, Y., 2016. A Novel Mechanism of Immune Memory Unveiled at the Invertebrate–Parasite Interface. *Trends in Parasitology* 32, 353–355. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.02.005>

- Coyle, N., O'Toole, C., Thomas, J.C.L., Ryder, D., Feil, E., Geary, M., Bean, T., Joseph, A.W., Waine, A., Cheslett, D., Verner-Jeffreys, D., 2023. *Vibrio aestuarianus* Clade A and Clade B isolates are associated with Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) disease outbreaks across Ireland. <https://doi.org/10.1101/2023.04.06.535062>
- Cunningham, M., Kube, P., Trotter, A., Li, X., Kirkland, P., Robinson, N., Smith, G., Carter, C., 2016. Future Oysters CRC-P: Enhancing Pacific Oyster Breeding to Optimise National Benefits.
- d'Ambrosio, J., 2020. Intérêt et optimisation de la sélection génomique chez la truite arc-en-ciel (phdthesis). Université Paris-Saclay.
- D'Ambrosio, J., Morvezen, R., Brard-Fudulea, S., Bestin, A., Acin Perez, A., Guéméné, D., Poncet, C., Haffray, P., Dupont-Nivet, M., Phocas, F., 2020. Genetic architecture and genomic selection of female reproduction traits in rainbow trout. *BMC Genomics* 21, 558. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06955-7>
- D'Ambrosio, J., Phocas, F., Haffray, P., Bestin, A., Brard-Fudulea, S., Poncet, C., Quillet, E., Dechamp, N., Fraslin, C., Charles, M., Dupont-Nivet, M., 2019. Genome-wide estimates of genetic diversity, inbreeding and effective size of experimental and commercial rainbow trout lines undergoing selective breeding. *Genetics Selection Evolution* 51, 26. <https://doi.org/10.1186/s12711-019-0468-4>
- Davenel, A., Quellec, S., Pouvreau, S., 2006. Noninvasive characterization of gonad maturation and determination of the sex of Pacific oysters by MRI. *Magnetic Resonance Imaging* 24, 1103–1110. <https://doi.org/10.1016/j.mri.2006.04.014>
- Davison, A.J., 2002. Evolution of the herpesviruses. *Veterinary Microbiology, Importance of Veterinary Herpesviruses in the Context of Pathogenesis, Immunology and Gene Therapy* 86, 69–88. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00492-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00492-8)
- Davison, A.J., Trus, B.L., Cheng, N., Steven, A.C., Watson, M.S., Cunningham, C., Deuff, R.-M.L., Renault, T., 2005. A novel class of herpesvirus with bivalve hosts. *Journal of General Virology* 86, 41–53. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80382-0>
- De Decker, S., Normand, J., Saulnier, D., Pernet, F., Castagnet, S., Boudry, P., 2011. Responses of diploid and triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas* to *Vibrio* infection in relation to their reproductive status. *Journal of Invertebrate Pathology* 106, 179–191. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.09.003>
- de Lorgeril, J., Lucasson, A., Petton, B., Toulza, E., Montagnani, C., Clerissi, C., Vidal-Dupiol, J., Chaparro, C., Galinier, R., Escoubas, J.-M., Haffner, P., Dégremont, L., Charrière, G.M., Lafont, M., Delort, A., Vergnes, A., Chiarello, M., Faury, N., Rubio, T., Leroy, M.A., Pérignon, A., Réglér, D., Morga, B., Alunno-Bruscia, M., Boudry, P., Le Roux, F., Destoumieux-Garzón, D., Gueguen, Y., Mitta, G., 2018. Immune-suppression by OsHV-1 viral infection causes fatal bacteraemia in Pacific oysters. *Nat Commun* 9, 4215. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06659-3>
- de Lorgeril, J., Petton, B., Lucasson, A., Perez, V., Stenger, P.-L., Dégremont, L., Montagnani, C., Escoubas, J.-M., Haffner, P., Allienne, J.-F., Leroy, M., Lagarde, F., Vidal-Dupiol, J., Gueguen, Y., Mitta, G., 2020. Differential basal expression of immune genes confers *Crassostrea gigas* resistance to Pacific oyster mortality syndrome. *BMC Genomics* 21, 63. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6471-x>
- de Melo, C.M.R., Durland, E., Langdon, C., 2016. Improvements in desirable traits of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, as a result of five generations of selection on the West Coast, USA. *Aquaculture* 460, 105–115. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.04.017>
- De, X., Qi, L., JingXiao, Z., 2019. Genotype by environment (G × E) interaction for growth and shell color traits in the white-shell strain of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Journal of Fisheries of China* 43, 474–482.
- Dégremont, L., Azéma, P., Maurouard, E., Travers, M.-A., 2020. Enhancing resistance to *Vibrio aestuarianus* in *Crassostrea gigas* by selection. *Aquaculture* 526, 735429. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735429>
- Dégremont, L., Bédier, E., Soletchnik, P., Ropert, M., Huvet, A., Moal, J., Samain, J.-F., Boudry, P., 2005. Relative importance of family, site, and field placement timing on survival, growth, and yield of hatchery-produced

- Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 249, 213–229. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.03.046>
- Dégremont, L., Benabdelmouna, A., 2014. Mortality associated with OsHV-1 in spat *Crassostrea gigas*: role of wild-caught spat in the horizontal transmission of the disease. *Aquacult Int* 22, 1767–1781. <https://doi.org/10.1007/s10499-014-9781-7>
- Dégremont, L., Boudry, P., Ropert, M., Samain, J.-F., Bédier, E., Soletchnik, P., 2010. Effects of age and environment on survival of summer mortality by two selected groups of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 299, 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.12.009>
- Dégremont, L., Ernande, B., Bédier, E., Boudry, P., 2007. Summer mortality of hatchery-produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*). I. Estimation of genetic parameters for survival and growth. *Aquaculture* 262, 41–53. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.10.025>
- Dégremont, L., Garcia, C., Allen, S.K., 2015a. Genetic improvement for disease resistance in oysters: A review. *Journal of Invertebrate Pathology, Pathogens and Disease Processes in Marine Molluscs* 131, 226–241. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.05.010>
- Dégremont, L., Garcia, C., Allen, S.K., 2015b. Genetic improvement for disease resistance in oysters: A review. *Journal of Invertebrate Pathology, Pathogens and Disease Processes in Marine Molluscs* 131, 226–241. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.05.010>
- Dégremont, L., Guyader, T., Tourbiez, D., Pépin, J.-F., 2013. Is horizontal transmission of the Ostreid herpesvirus OsHV-1 in *Crassostrea gigas* affected by unselected or selected survival status in adults to juveniles? *Aquaculture* 408–409, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.05.025>
- Dégremont, L., Ledu, C., Maurouard, E., Nourry, M., Benabdelmouna, A., 2016. Effect of ploidy on the mortality of *Crassostrea gigas* spat caused by OsHV-1 in France using unselected and selected OsHV-1 resistant oysters. *Aquaculture Research* 47, 777–786. <https://doi.org/10.1111/are.12536>
- Dégremont, L., Maurouard, E., Jourdan, A., Lamy, J.-B., Boudry, P., 2022. SNP-based parentage analyses over two successive generations demonstrates the feasibility of efficient production of inbred lines in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) by self-fertilization of simultaneous hermaphrodites despite severe inbreeding depression. *Aquaculture* 547, 737443. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737443>
- Dégremont, L., Maurouard, E., Ledu, C., Benabdelmouna, A., 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.014>
- Dégremont, L., Morga, B., Maurouard, E., Travers, M.-A., 2021. Susceptibility variation to the main pathogens of *Crassostrea gigas* at the larval, spat and juvenile stages using unselected and selected oysters to OsHV-1 and/or *V. aestuarianus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 183, 107601. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107601>
- Dégremont, L., Nourry, M., Maurouard, E., 2015c. Mass selection for survival and resistance to OsHV-1 infection in *Crassostrea gigas* spat in field conditions: response to selection after four generations. *Aquaculture* 446, 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.04.029>
- Delisle, L., Laroche, O., Hilton, Z., Burguin, J.-F., Rolton, A., Berry, J., Pochon, X., Boudry, P., Vignier, J., 2022. Understanding the dynamic of POMS infection and the role of microbiota composition in the survival of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*. (preprint). In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1636731/v1>
- Delmotte, J., 2021. viral genetic diversity what is its role in the interaction of the ostreid herpesvirus 1 virus and its host the oyster *crassostrea gigas*? (phdthesis). Université Montpellier.
- Delmotte, J., Chaparro, C., Galinier, R., de Lorgeril, J., Petton, B., Stenger, P.-L., Vidal-Dupiol, J., Destoumieux-Garzon, D., Gueguen, Y., Montagnani, C., Escoubas, J.-M., Mitta, G., 2020. Contribution of Viral Genomic Diversity to Oyster Susceptibility in the Pacific Oyster Mortality Syndrome. *Frontiers in Microbiology* 11.

- Delomas, T.A., Hollenbeck, C.M., Matt, J.L., Thompson, N.F., 2023. Evaluating cost-effective genotyping strategies for genomic selection in oysters. *Aquaculture* 562, 738844. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738844>
- Dempster, E.R., Lerner, I.M., 1950. Heritability of Threshold Characters. *Genetics* 35, 212–236.
- DePaola, A., Nordstrom, J.L., Bowers, J.C., Wells, J.G., Cook, D.W., 2003. Seasonal Abundance of Total and Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Alabama Oysters. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 1521–1526. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.3.1521-1526.2003>
- Des, M., Fernández-Nóvoa, D., deCastro, M., Gómez-Gesteira, J.L., Sousa, M.C., Gómez-Gesteira, M., 2021. Modeling salinity drop in estuarine areas under extreme precipitation events within a context of climate change: Effect on bivalve mortality in Galician Rías Baixas. *Science of The Total Environment* 790, 148147. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148147>
- Deslous-Paoli, J.-M., Héral, M., 1991. Oyster Culture in European Countries, in: *Estuarine and Marine Bivalve Mollusk Culture*. CRC Press 13, 154-190. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00000/3038/>
- Dheilly, N.M., Jouaux, A., Boudry, P., Favrel, P., Lelong, C., 2014. Transcriptomic Profiling of Gametogenesis in Triploid Pacific Oysters *Crassostrea gigas*: Towards an Understanding of Partial Sterility Associated with Triploidy. *PLOS ONE* 9, e112094. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112094>
- Divilov, K., Merz, N., Schoolfield, B., Green, T.J., Langdon, C., 2023. Marker-assisted selection in a Pacific oyster population for an antiviral QTL conferring increased survival to OsHV-1 mortality events in Tomales Bay. *Aquaculture* 567, 739291. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739291>
- Divilov, K., Schoolfield, B., Mancilla Cortez, D., Wang, X., Fleener, G.B., Jin, L., Dumbauld, B.R., Langdon, C., 2021. Genetic improvement of survival in Pacific oysters to the Tomales Bay strain of OsHV-1 over two cycles of selection. *Aquaculture* 543, 737020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737020>
- Divilov, K., Schoolfield, B., Morga, B., Dégremont, L., Burge, C.A., Mancilla Cortez, D., Friedman, C.S., Fleener, G.B., Dumbauld, B.R., Langdon, C., 2019. First evaluation of resistance to both a California OsHV-1 variant and a French OsHV-1 microvariant in Pacific oysters. *BMC Genetics* 20, 96. <https://doi.org/10.1186/s12863-019-0791-3>
- Donaghy, L., Kraffe, E., Goic, N.L., Lambert, C., Volety, A.K., Soudant, P., 2012. Reactive Oxygen Species in Unstimulated Hemocytes of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*: A Mitochondrial Involvement. *PLOS ONE* 7, e46594. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046594>
- Dove, M.C., Nell, J.A., O'Connor, W.A., 2013. Evaluation of the progeny of the fourth-generation Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850) breeding lines for resistance to QX disease (*Marteilia sydneyi*) and winter mortality (*Bonamia roughleyi*). *Aquaculture Research* 44, 1791–1800. <https://doi.org/10.1111/are.12012>
- Druet, T., Macleod, I.M., Hayes, B.J., 2014. Toward genomic prediction from whole-genome sequence data: impact of sequencing design on genotype imputation and accuracy of predictions. *Heredity* 112, 39–47. <https://doi.org/10.1038/hdy.2013.13>
- Du, X., Fan, G., Jiao, Y., Zhang, H., Guo, X., Huang, R., Zheng, Z., Bian, C., Deng, Y., Wang, Q., Wang, Z., Liang, X., Liang, H., Shi, C., Zhao, X., Sun, F., Hao, R., Bai, J., Liu, J., Chen, W., Liang, J., Liu, W., Xu, Z., Shi, Q., Xu, X., Zhang, G., Liu, X., 2017. The pearl oyster *Pinctada fucata martensii* genome and multi-omic analyses provide insights into biomineralization. *GigaScience* 6, gix059. <https://doi.org/10.1093/gigascience/gix059>
- Dubert, J., Barja, J.L., Romalde, J.L., 2017. New Insights into Pathogenic Vibrios Affecting Bivalves in Hatcheries: Present and Future Prospects. *Frontiers in Microbiology* 8.
- Dubert, J., Osorio, C.R., Prado, S., Barja, J.L., 2016. Persistence of Antibiotic Resistant *Vibrio* spp. in Shellfish Hatchery Environment. *Microb Ecol* 72, 851–860. <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0705-5>
- Dundon, W.G., Arzul, I., Omnes, E., Robert, M., Magnabosco, C., Zambon, M., Gennari, L., Toffan, A., Terregino, C., Capua, I., Arcangeli, G., 2011. Detection of Type 1 Ostreid Herpes variant (OsHV-1 μ var) with no associated

- mortality in French-origin Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* farmed in Italy. *Aquaculture* 314, 49–52. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.005>
- Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., Chevassus, B., 2002. Optimization of factorial mating designs for inference on heritability in fish species. *Aquaculture, Genetics in Aquaculture VII* 204, 361–370. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00839-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00839-0)
- Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., Haffray, P., Chevassus, B., 2006. Effect of different mating designs on inbreeding, genetic variance and response to selection when applying individual selection in fish breeding programs. *Aquaculture* 252, 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.07.005>
- Eiler, A., Johansson, M., Bertilsson, S., 2006. Environmental Influences on *Vibrio* Populations in Northern Temperate and Boreal Coastal Waters (Baltic and Skagerrak Seas). *Applied and Environmental Microbiology* 72, 6004–6011. <https://doi.org/10.1128/AEM.00917-06>
- Emboly, G.C., Hayford, C.O., 1925. The Advantage of Rearing Brook Trout Fingerlings from Selected Breeders. *Transactions of the American Fisheries Society* 55, 135–148. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1925\)55\[135:TAORBT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1925)55[135:TAORBT]2.0.CO;2)
- Ernande, B., Dieckmann, U., 2004. The evolution of phenotypic plasticity in spatially structured environments: implications of intraspecific competition, plasticity costs and environmental characteristics. *Journal of Evolutionary Biology* 17, 613–628. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2004.00691.x>
- Evans, O., Paul-Pont, I., Whittington, R.J., 2017. Detection of ostreid herpesvirus 1 microvariant DNA in aquatic invertebrate species, sediment and other samples collected from the Georges River estuary, New South Wales, Australia. *Diseases of Aquatic Organisms* 122, 247–255. <https://doi.org/10.3354/dao03078>
- Evans, S., Camara, M.D., Langdon, C.J., 2009. Heritability of shell pigmentation in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 286, 211–216. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.09.022>
- Evans, S., Langdon, C., 2006a. Direct and indirect responses to selection on individual body weight in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 261, 546–555. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.07.037>
- Evans, S., Langdon, C., 2006b. Effects of genotype×environment interactions on the selection of broadly adapted Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 261, 522–534. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.07.022>
- Fabioux, C., Huvet, A., Lelong, C., Robert, R., Pouvreau, S., Daniel, J.Y., Minguant, C., Le Pennec, M., 2004. Oyster vasa-like gene as a marker of the germline cell development in *Crassostrea gigas*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 320, 592–598. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.06.009>
- Faisal, M., MacIntyre, E.A., Adham, K.G., Tall, B.D., Kothary, M.H., La Peyre, J.F., 1998. Evidence for the presence of protease inhibitors in eastern (*Crassostrea virginica*) and Pacific (*Crassostrea gigas*) oysters. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 121, 161–168. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(98\)10084-6](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(98)10084-6)
- Falconer, D.S., Mackay, T.F.C., 1996. Introduction to quantitative genetics. Introduction to quantitative genetics.
- Fallet, M., Montagnani, C., Petton, B., Dantan, L., de Lorgeril, J., Comarmond, S., Chaparro, C., Toulza, E., Boitard, S., Escoubas, J.-M., Vergnes, A., Le Grand, J., Bulla, I., Gueguen, Y., Vidal-Dupirol, J., Grunau, C., Mitta, G., Cosseau, C., 2022. Early life microbial exposures shape the *Crassostrea gigas* immune system for lifelong and intergenerational disease protection. *Microbiome* 10, 85. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01280-5>
- FAO, 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022: Towards Blue Transformation, The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). FAO, Rome, Italy. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Farley, C.A., Banfield, W.G., Kasnic, G., Foster, W.S., 1972. Oyster Herpes-Type Virus. *Science* 178, 759–760. <https://doi.org/10.1126/science.178.4062.759>
- Fleury, E., Petton, S., Benabdelmouna, A., Corporeau, C., Pouvreau, S., 2022. Observatoire national du cycle de vie de l'huître creuse en France. Rapport annuel ECOSCOPA 2021.

- Ford, S.E., Kanaley, S.A., Littlewood, D.T.J., 1993. Cellular Responses of Oysters Infected with *Haplosporidium nelsoni*: Changes in Circulating and Tissue-Infiltrating Hemocytes. *Journal of Invertebrate Pathology* 61, 49–57. <https://doi.org/10.1006/jipa.1993.1009>
- Fraslin, C., Phocas, F., Bestin, A., Charles, M., Bernard, M., Krieg, F., Dechamp, N., Ciobotaru, C., Hozé, C., Petitprez, F., Milhes, M., Lluch, J., Bouchez, O., Poncet, C., Hocdé, P., Haffray, P., Guiguen, Y., Quillet, E., 2020. Genetic determinism of spontaneous masculinisation in XX female rainbow trout: new insights using medium throughput genotyping and whole-genome sequencing. *Sci Rep* 10, 17693. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74757-8>
- Friedman, C.S., Estes, R.M., Stokes, N.A., Burge, C.A., Hargove, J.S., Barber, B.J., Elston, R.A., Burreson, E.M., S.Reece, K., 2005. Herpes virus in juvenile Pacific oysters *Crassostrea gigas* from Tomales Bay, California, coincides with summer mortality episodes. *Diseases of Aquatic Organisms* 63, 33–41. <https://doi.org/10.3354/dao063033>
- Froelich, B.A., Noble, R.T., 2016. *Vibrio* bacteria in raw oysters: managing risks to human health. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371, 20150209. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0209>
- Fuhrmann, M., Castinel, A., Cheslett, D., Furones Nozal, D., Whittington, R.J., 2019. The impacts of ostreid herpesvirus 1 microvariants on Pacific oyster aquaculture in the Northern and Southern Hemispheres since 2008. Impacto de microvariantes del herpesvirus de los ostreidos 1 en el cultivo de ostra japonesa en los hemisferios Norte y Sur desde 2008. <https://doi.org/10.20506/rst.38.2.3000>
- Fuhrmann, M., Petton, B., Quillien, V., Faury, N., Morga, B., Pernet, F., 2016. Salinity influences disease-induced mortality of the oyster *Crassostrea gigas* and infectivity of the ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1). *Aquaculture Environment Interactions* 8, 543–552. <https://doi.org/10.3354/aei00197>
- Gagnaire, B., Soletchnik, P., Madec, P., Geairon, P., Le Moine, O., Renault, T., 2006. Diploid and triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg), reared at two heights above sediment in Marennes-Oleron Basin, France: Difference in mortality, sexual maturation and hemocyte parameters. *Aquaculture* 254, 606–616. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.10.008>
- Gagnaire, P.-A., Lamy, J.-B., Cornette, F., Heurtebise, S., Dégremont, L., Flahauw, E., Boudry, P., Bierne, N., Lapègue, S., 2018. Analysis of Genome-Wide Differentiation between Native and Introduced Populations of the Cupped Oysters *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata*. *Genome Biology and Evolution* 10, 2518–2534. <https://doi.org/10.1093/gbe/evy194>
- Galtsoff, P.S., 1938. Physiology of reproduction of *ostrea virginica* : ii. stimulation of spawning in the female oyster. *The Biological Bulletin* 75, 286–307. <https://doi.org/10.2307/1537736>
- Garcia, C., Thébault, A., Dégremont, L., Arzul, I., Miossec, L., Robert, M., Chollet, B., François, C., Joly, J.-P., Ferrand, S., Kerdudou, N., Renault, T., 2011. Ostreid herpesvirus 1 detection and relationship with *Crassostrea gigas* spat mortality in France between 1998 and 2006. *Veterinary Research* 42, 73. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-73>
- Garnier, M., Labreuche, Y., Garcia, C., Robert, M., Nicolas, J.-L., 2007. Evidence for the Involvement of Pathogenic Bacteria in Summer Mortalities of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Microbial Ecology* 53, 187–196. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9061-9>
- Garnier, M., Labreuche, Y., Nicolas, J.-L., 2008. Molecular and phenotypic characterization of *Vibrio aestuarianus* subsp. *francensis* subsp. nov., a pathogen of the oyster *Crassostrea gigas*. *Systematic and Applied Microbiology* 31, 358–365. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2008.06.003>
- Garnier-Géré, P.H., Naciri-Graven, Y., Bougrier, S., Magoulas, A., Héral, M., Kotoulas, G., Hawkins, A., Gérard, A., 2002. Influences of triploidy, parentage and genetic diversity on growth of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* reared in contrasting natural environments. *Molecular Ecology* 11, 1499–1514. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01531.x>
- Gawra, J., Valdivieso, A., Roux, F., Laporte, M., de Lorgeril, J., Gueguen, Y., Saccas, M., Escoubas, J.-M., Montagnani, C., Destoumieux-Garzón, D., Lagarde, F., Leroy, M. A., Haffner, P., Petton, B., Cosseau, C.,

- Morga, B., Dégremon, L., Mittra, G., Grunau, C., Vidal-Dupiol, J. 2023. Epigenetic then genetic variations underpin rapid adaptation of oyster populations (*Crassostrea gigas*) to Pacific Oyster Mortality Syndrome (POMS). *bioRxiv* 2023.03.09.531494. <https://doi.org/10.1101/2023.03.09.531494>
- Gay, M., Berthe, F.C.J., Roux, F.L., 2004. Screening of *Vibrio* isolates to develop an experimental infection model in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Diseases of Aquatic Organisms* 59, 49–56. <https://doi.org/10.3354/dao059049>
- Gazeau, F., Parker, L.M., Comeau, S., Gattuso, J.-P., O'Connor, W.A., Martin, S., Pörtner, H.-O., Ross, P.M., 2013. Impacts of ocean acidification on marine shelled molluscs. *Marine Biology* 160, 2207–2245. <https://doi.org/10.1007/s00227-013-2219-3>
- Ge, J., Li, Q., Yu, H., Kong, L., 2015. Mendelian inheritance of golden shell color in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 441, 21–24. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.031>
- Genard, B., Miner, P., Nicolas, J.-L., Moraga, D., Boudry, P., Pernet, F., Tremblay, R., 2013. Integrative Study of Physiological Changes Associated with Bacterial Infection in Pacific Oyster Larvae. *PLOS ONE* 8, e64534. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064534>
- Girard, S., Pérez Agúndez, J.A., 2014. The effects of the oyster mortality crisis on the economics of the shellfish farming sector: Preliminary review and prospects from a case study in Marennes-Oleron Bay (France). *Marine Policy* 48, 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2014.03.024>
- Gittenberger, A., Voorbergen-Laarman, M.A., Engelsma, M.Y., 2016. Ostreid herpesvirus OsHV-1 μ Var in Pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg 1793) of the Wadden Sea, a UNESCO world heritage site. *Journal of Fish Diseases* 39, 105–109. <https://doi.org/10.1111/jfd.12332>
- Gjedrem, T., 2012. Genetic improvement for the development of efficient global aquaculture: A personal opinion review. *Aquaculture* 344–349, 12–22. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.03.003>
- Glize P, Morvant C (2023). Suivi de la mortalité de l'huitre creuse : Bilan final 2022. Smidap
- Goddard, M. e., Hayes, B. j., 2007. Genomic selection. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 124, 323–330. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2007.00702.x>
- Gomes, R.B., Dybas, P.R., Silva, F.C. da, Sühnel, S., Albuquerque, M.C.P. de, Melo, C.M.R. de, 2018. Estimates of genetic parameters for growth and survival in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Boletim do Instituto de Pesca* 44.
- Gomes-dos-Santos, A., Lopes-Lima, M., Castro, L.F.C., Froufe, E., 2020. Molluscan genomics: the road so far and the way forward. *Hydrobiologia* 847, 1705–1726. <https://doi.org/10.1007/s10750-019-04111-1>
- Gómez-Chiarri, M., Warren, W.C., Guo, X., Proestou, D., 2015. Developing tools for the study of molluscan immunity: The sequencing of the genome of the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *Fish & Shellfish Immunology*, SI: *Molluscan Immunity* 46, 2–4. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.004>
- Goudenège, D., Travers, M.A., Lemire, A., Petton, B., Haffner, P., Labreuche, Y., Tourbiez, D., Mangenot, S., Calteau, A., Mazel, D., Nicolas, J.L., Jacq, A., Le roux, F., 2015. A single regulatory gene is sufficient to alter *Vibrio aestuarianus* pathogenicity in oysters. *Environmental Microbiology* 17, 4189–4199. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12699>
- Gouletquer, P., Heral, M., 1997. Marine Molluscan Production Trends in France: From Fisheries to Aquaculture. NOAA Technical Report. NMFS 129.
- Gourbal, B., Pinaud, S., Beckers, G.J.M., Van Der Meer, J.W.M., Conrath, U., Netea, M.G., 2018. Innate immune memory: An evolutionary perspective. *Immunological Reviews* 283, 21–40. <https://doi.org/10.1111/imr.12647>
- Gratacap, R.L., Wargelius, A., Edvardsen, R.B., Houston, R.D., 2019. Potential of Genome Editing to Improve Aquaculture Breeding and Production. *Trends in Genetics* 35, 672–684. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2019.06.006>

- Green, T.J., Speck, P., 2018. Antiviral Defense and Innate Immune Memory in the Oyster. *Viruses* 10, 133. <https://doi.org/10.3390/v10030133>
- Green, T.J., Vergnes, A., Montagnani, C., de Lorgeril, J., 2016. Distinct immune responses of juvenile and adult oysters (*Crassostrea gigas*) to viral and bacterial infections. *Veterinary Research* 47, 72. <https://doi.org/10.1186/s13567-016-0356-7>
- Griot, R., 2021. Développement d'outils et de méthodes de sélection génomique chez le bar et la daurade (phdthesis). Université Paris-Saclay.
- Griot, R., Allal, F., Phocas, F., Brard-Fudulea, S., Morvezen, R., Haffray, P., François, Y., Morin, T., Bestin, A., Bruant, J.-S., Cariou, S., Peyrou, B., Brunier, J., Vandeputte, M., 2021. Optimization of Genomic Selection to Improve Disease Resistance in Two Marine Fishes, the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) and the Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*). *Frontiers in Genetics* 12.
- Grizel, H., Héral, M., 1991. Introduction into France of the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). *ICES Journal of Marine Science* 47, 399–403. <https://doi.org/10.1093/icesjms/47.3.399>
- Guichoux, E., Lagache, L., Wagner, S., Chaumeil, P., Léger, P., Lepais, O., Lepoittevin, C., Malausa, T., Revardel, E., Salin, F., Petit, R. j., 2011. Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources* 11, 591–611. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03014.x>
- Guo, X., Allen, S., 1994. Viable tetraploid Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by inhibiting polar body I in eggs of triploids. *Molecular marine biology and biotechnology* 3, 42–50.
- Guo, X., DeBrosse, G.A., Allen, S.K., 1996. All-triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids. *Aquaculture* 142, 149–161. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01243-5](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01243-5)
- Guo, X., He, Y., Zhang, L., Lelong, C., Jouaux, A., 2015. Immune and stress responses in oysters with insights on adaptation. *Fish & Shellfish Immunology, SI: Molluscan Immunity* 46, 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.018>
- Guo, X., Hedgecock, D., Hershberger, W.K., Cooper, K., Jr., S.K.A., 1998. GENETIC DETERMINANTS OF PROTANDRIC SEX IN THE PACIFIC OYSTER, *CRASSOSTREA GIGAS* THUNBERG. *Evolution* 52, 394–402. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1998.tb01640.x>
- Guo, X., Li, Q., Wang, Q.Z., Kong, L.F., 2012. Genetic Mapping and QTL Analysis of Growth-Related Traits in the Pacific Oyster. *Mar Biotechnol* 14, 218–226. <https://doi.org/10.1007/s10126-011-9405-4>
- Gutierrez, Alejandro P, Bean, T.P., Hooper, C., Stenton, C.A., Sanders, M.B., Paley, R.K., Rastas, P., Bryrom, M., Matika, O., Houston, R.D., 2018. A Genome-Wide Association Study for Host Resistance to Ostreid Herpesvirus in Pacific Oysters (*Crassostrea gigas*). *G3 Genes|Genomes|Genetics* 8, 1273–1280. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200113>
- Gutierrez, Alejandro P., Matika, O., Bean, T.P., Houston, R.D., 2018. Genomic Selection for Growth Traits in Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*): Potential of Low-Density Marker Panels for Breeding Value Prediction. *Frontiers in Genetics* 9.
- Gutierrez, A.P., Symonds, J., King, N., Steiner, K., Bean, T.P., Houston, R.D., 2020. Potential of genomic selection for improvement of resistance to ostreid herpesvirus in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Animal Genetics* 51, 249–257. <https://doi.org/10.1111/age.12909>
- Gutierrez, A.P., Turner, F., Gharbi, K., Talbot, R., Lowe, N.R., Peñaloza, C., McCullough, M., Prodöhl, P.A., Bean, T.P., Houston, R.D., 2017. Development of a Medium Density Combined-Species SNP Array for Pacific and European Oysters (*Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*). *G3 Genes|Genomes|Genetics* 7, 2209–2218. <https://doi.org/10.1534/g3.117.041780>
- Habier, D., Fernando, R.L., Dekkers, J.C.M., 2009. Genomic Selection Using Low-Density Marker Panels. *Genetics* 182, 343–353. <https://doi.org/10.1534/genetics.108.100289>
- Habier, D., Fernando, R.L., Dekkers, J.C.M., 2007. The Impact of Genetic Relationship Information on Genome-Assisted Breeding Values. *Genetics* 177, 2389–2397. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.081190>

- Hallegraeff, G.M., Anderson, D.M., Cembella, A.D., Enevoldsen, H.O., 2004. Manual on Harmful Marine Microalgae. 2nd revised edition. (Report). UNESCO. <https://doi.org/10.25607/OBP-1370>
- Hallegraeff, G.M., McCausland, M.A., Brown, R.K., 1995. Early warning of toxic dinoflagellate blooms of *Gymnodinium catenatum* in southern Tasmanian waters. *Journal of Plankton Research* 17, 1163–1176. <https://doi.org/10.1093/plankt/17.6.1163>
- Han, Z., Li, Q., 2021. Relationship Between Shell Color and Growth and Survival Traits in the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *J. Ocean Univ. China* 20, 985–991. <https://doi.org/10.1007/s11802-021-4676-5>
- Han, Z., Li, Q., Xu, C., Liu, S., Yu, H., Kong, L., 2021. QTL mapping for orange shell color and sex in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 530, 735781. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735781>
- Handley, S.J., 2002. Optimizing intertidal Pacific oyster (*Thunberg*) culture, Houhora Harbour, northern New Zealand. *Aquaculture Research* 33, 1019–1030. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00762.x>
- Hansen, B.W., Dolmer, P., Vismann, B., 2023. Too late for regulatory management on Pacific oysters in European coastal waters? *Journal of Sea Research* 191, 102331. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2022.102331>
- Haskin, Ford, 1979. Development of resistance to *Minchinia nelsoni* (MSX) mortality in laboratory-reared and native oyster stocks in Delaware Bay. *Mar Fish Rev* 41, 54–63.
- Hassard, F., Sharp, J.H., Taft, H., LeVay, L., Harris, J.P., McDonald, J.E., Tuson, K., Wilson, J., Jones, D.L., Malham, S.K., 2017. Critical Review on the Public Health Impact of Norovirus Contamination in Shellfish and the Environment: A UK Perspective. *Food Environ Virol* 9, 123–141. <https://doi.org/10.1007/s12560-017-9279-3>
- Hauser, L., Baird, M., Hilborn, R., Seeb, L.W., Seeb, J.E., 2011. An empirical comparison of SNPs and microsatellites for parentage and kinship assignment in a wild sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) population. *Molecular Ecology Resources* 11, 150–161. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02961.x>
- Hayes, B.J., Bowman, P.J., Chamberlain, A.C., Verbyla, K., Goddard, M.E., 2009. Accuracy of genomic breeding values in multi-breed dairy cattle populations. *Genetics Selection Evolution* 41, 51. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-41-51>
- He, X., Li, C., Qi, H., Meng, J., Wang, W., Wu, F., Li, L., Zhang, G., 2021. A genome-wide association study to identify the genes associated with shell growth and shape-related traits in *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 543, 736926. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736926>
- Hedgecock, D., Li, G., Hubert, S., Bucklin, K., Ribes, V., 2004. Widespread null alleles and poor cross-species amplification of microsatellite DNA loci cloned from the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Journal of Shellfish Research* 23, 379–385.
- Hedgecock, D., Shin, G., Gracey, A.Y., Den Berg, D.V., Samanta, M.P., 2015. Second-Generation Linkage Maps for the Pacific Oyster *Crassostrea gigas* Reveal Errors in Assembly of Genome Scaffolds. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 5, 2007–2019. <https://doi.org/10.1534/g3.115.019570>
- Henderson, C.R., 1975. Best Linear Unbiased Estimation and Prediction under a Selection Model. *Biometrics* 31, 423–447. <https://doi.org/10.2307/2529430>
- Héral, M., 1989. Traditional oyster culture in France. In : *Barnabe Aquaculture* (Ellis Horwood) 342–387.
- Héral, M., Deslous-Paoli, J.-M., 1991. Oyster culture in European countries. In : *Estuarine & Marine Bivalve mollusk culture*. Ed. Menzel 154–190.
- Hickey, J.M., Cossa, J., Babu, R., de los Campos, G., 2012. Factors Affecting the Accuracy of Genotype Imputation in Populations from Several Maize Breeding Programs. *Crop Science* 52, 654–663. <https://doi.org/10.2135/cropsci2011.07.0358>
- Hiebenthal, C., Philipp, E.E.R., Eisenhauer, A., Wahl, M., 2012. Interactive effects of temperature and salinity on shell formation and general condition in Baltic Sea *Mytilus edulis* and *Arctica islandica*. *Aquatic Biology* 14, 289–298. <https://doi.org/10.3354/ab00405>

- Hine, P.M., Wesney, B., Hay, B.E., 1992. Herpesviruses associated with mortalities among hatchery-reared larval Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Diseases of Aquatic Organisms* 12, 135–142. <https://doi.org/10.3354/dao012135>
- Hollenbeck, C.M., Johnston, I.A., 2018. Genomic Tools and Selective Breeding in Molluscs. *Frontiers in Genetics* 9.
- Horns, F., Hood, M.E., 2012. The evolution of disease resistance and tolerance in spatially structured populations. *Ecol Evol* 2, 1705–1711. <https://doi.org/10.1002/ece3.290>
- Houssin, M., Trancart, S., Denechere, L., Oden, E., Adeline, B., Lepoitevin, M., Pitel, P.-H., 2019. Abnormal mortality of triploid adult Pacific oysters: Is there a correlation with high gametogenesis in Normandy, France? *Aquaculture* 505, 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.043>
- Houston, R.D., Bean, T.P., Macqueen, D.J., Gundappa, M.K., Jin, Y.H., Jenkins, T.L., Selly, S.L.C., Martin, S.A.M., Stevens, J.R., Santos, E.M., Davie, A., Robledo, D., 2020. Harnessing genomics to fast-track genetic improvement in aquaculture. *Nat Rev Genet* 21, 389–409. <https://doi.org/10.1038/s41576-020-0227-y>
- Hu, B., Tian, Y., Li, Q., Liu, S., 2022. Genomic signatures of artificial selection in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Evolutionary Applications* 15, 618–630. <https://doi.org/10.1111/eva.13286>
- Hubert, S., Hedgecock, D., 2004. Linkage Maps of Microsatellite DNA Markers for the Pacific Oyster *Crassostrea gigas* We dedicate this study to the memory of Will Borgenson, who reared and cared for the parents of the mapping families. *Genetics* 168, 351–362. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.027342>
- Huvet, A., Normand, J., Fleury, E., Quillien, V., Fabioux, C., Boudry, P., 2010. Reproductive effort of Pacific oysters: A trait associated with susceptibility to summer mortality. *Aquaculture* 304, 95–99. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.022>
- Hwang, J.Y., Park, J.J., Yu, H.J., Hur, Y.B., Arzul, I., Couraleau, Y., Park, M.A., 2013. Ostreid herpesvirus 1 infection in farmed Pacific oyster larvae *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Korea. *Journal of Fish Diseases* 36, 969–972. <https://doi.org/10.1111/jfd.12093>
- Ibarra, A.M., Ascencio-Michel, R., Ramírez, J.L., Manzano-Sarabia, M., Rodríguez-Jaramillo, C., 2017. Performance of Diploid and Triploid *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) Grown in Tropical Versus Temperate Natural Environmental Conditions. *shre* 36, 119–139. <https://doi.org/10.2983/035.036.0113>
- JianLong, G., Qi, L., Hong, Y., LingFeng, K., 2016. Selection response in mass selection of golden shell Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Journal of Fisheries of China* 40, 612–617.
- Jouaux, A., Lafont, M., Blin, J.-L., Houssin, M., Mathieu, M., Lelong, C., 2013. Physiological change under OsHV-1 contamination in Pacific oyster *Crassostrea gigas* through massive mortality events on fields. *BMC Genomics* 14, 590. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-590>
- Jourdan, A., Bugeon, J., Lamy, J.-B., Enez, F., Dégremon, L., Boudry, P., Haffray, P., Chesnier, F., Vetois, E., Morvezen, R., 2021a. An image analysis pipeline for molluscs shells phenotyping: Development and validation on the pacific oyster *Crassostrea gigas*. Presented at the Aquaculture Europe 2021.
- Jourdan, A., Bugeon, J., Lamy, J.-B., Enez, F., Dégremon, L., Boudry, P., Haffray, P., Chesnier, F., Vetois, E., Morvezen, R., 2021b. An image analysis pipeline for molluscs shells phenotyping: Development and validation on the pacific oyster *Crassostrea gigas*, in: *Aquaculture Europe 2021*.
- Kang, J.-H., Kang, H.-S., Lee, J.-M., An, C.-M., Kim, S.-Y., Lee, Y.-M., Kim, J.-J., 2013. Characterizations of Shell and Mantle Edge Pigmentation of a Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*, in Korean Peninsula. *Asian-Australas J Anim Sci* 26, 1659–1664. <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13562>
- Kause, A., Ødegård, J., 2012. The genetic analysis of tolerance to infections: a review. *Frontiers in Genetics* 3.
- Kause, A., van Dalen, S., Bovenhuis, H., 2012. Genetics of Ascites Resistance and Tolerance in Chicken: A Random Regression Approach. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 2, 527–535. <https://doi.org/10.1534/g3.112.002311>

- Keeling, S.E., Brosnahan, C.L., Williams, R., Gias, E., Hannah, M., Bueno, R., McDonald, W.L., Johnston, C., 2014. New Zealand juvenile oyster mortality associated with ostreid herpesvirus 1—an opportunistic longitudinal study. *Diseases of Aquatic Organisms* 109, 231–239. <https://doi.org/10.3354/dao02735>
- King, N.G., Wilmes, S.B., Smyth, D., Tinker, J., Robins, P.E., Thorpe, J., Jones, L., Malham, S.K., 2021. Climate change accelerates range expansion of the invasive non-native species, the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *ICES Journal of Marine Science* 78, 70–81. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsaa189>
- Kong, N., Li, Q., Yu, H., Kong, L.-F., 2015. Heritability estimates for growth-related traits in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) using a molecular pedigree. *Aquaculture Research* 46, 499–508. <https://doi.org/10.1111/are.12205>
- Kriaridou, C., Tsairidou, S., Frasin, C., Gorjanc, G., Loseley, M.E., Johnston, I.A., Houston, R.D., Robledo, D., 2023. Evaluation of low-density SNP panels and imputation for cost-effective genomic selection in four aquaculture species. *Frontiers in Genetics* 14.
- Kriaridou, C., Tsairidou, S., Houston, R.D., Robledo, D., 2020. Genomic Prediction Using Low Density Marker Panels in Aquaculture: Performance Across Species, Traits, and Genotyping Platforms. *Frontiers in Genetics* 11.
- Kruuk, L.E.B., Hadfield, J.D., 2007. How to separate genetic and environmental causes of similarity between relatives. *Journal of Evolutionary Biology* 20, 1890–1903. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01377.x>
- Labreuche, Y., Lambert, C., Soudant, P., Boulo, V., Huvet, A., Nicolas, J.-L., 2006a. Cellular and molecular hemocyte responses of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, following bacterial infection with *Vibrio aestuarianus* strain 01/32. *Microbes and Infection* 8, 2715–2724. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2006.07.020>
- Labreuche, Y., Le Roux, F., Henry, J., Zatylny, C., Huvet, A., Lambert, C., Soudant, P., Mazel, D., Nicolas, J.-L., 2010. *Vibrio aestuarianus* zinc metalloprotease causes lethality in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and impairs the host cellular immune defenses. *Fish & Shellfish Immunology* 29, 753–758. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.07.007>
- Labreuche, Y., Soudant, P., Gonçalves, M., Lambert, C., Nicolas, J.-L., 2006b. Effects of extracellular products from the pathogenic *Vibrio aestuarianus* strain 01/32 on lethality and cellular immune responses of the oyster *Crassostrea gigas*. *Developmental & Comparative Immunology* 30, 367–379. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2005.05.003>
- Lacoste, A., Jalabert, F., Malham, S., Cueff, A., Gélébart, F., Cordevant, C., Lange, M., Poulet, S.A., 2001. A *Vibrio splendidus* strain is associated with summer mortality of juvenile oysters *Crassostrea gigas* in the Bay of Morlaix (North Brittany, France). *Diseases of Aquatic Organisms* 46, 139–145. <https://doi.org/10.3354/dao046139>
- Lafont, M., Petton, B., Vergnes, A., Pauletto, M., Segarra, A., Gourbal, B., Montagnani, C., 2017. Long-lasting antiviral innate immune priming in the Lophotrochozoan Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Scientific Reports* 7, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13564-0>
- Lafont, M., Vergnes, A., Vidal-Dupirol, J., de Lorgeril, J., Gueguen, Y., Haffner, P., Petton, B., Chaparro, C., Barrachina, C., Destoumieux-Garzon, D., Mitta, G., Gourbal, B., Montagnani, C., 2020. A Sustained Immune Response Supports Long-Term Antiviral Immune Priming in the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. *mBio* 11, e02777-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.02777-19>
- Lallias, D., Gomez-Raya, L., Haley, C.S., Arzul, I., Heurtebise, S., Beaumont, A.R., Boudry, P., Lapègue, S., 2009. Combining Two-Stage Testing and Interval Mapping Strategies to Detect QTL for Resistance to Bonamiosis in the European Flat Oyster *Ostrea edulis*. *Marine Biotechnology* 11, 570–584. <https://doi.org/10.1007/s10126-008-9173-y>
- Lallias, D., Taris, N., Boudry, P., Bonhomme, F., Lapègue, S., 2010. Variance in the reproductive success of flat oyster *Ostrea edulis* L. assessed by parentage analyses in natural and experimental conditions. *Genetics Research* 92, 175–187. <https://doi.org/10.1017/S0016672310000248>

- Langdon, C., Evans, F., Jacobson, D., Blouin, M., 2003. Yields of cultured Pacific oysters *Crassostrea gigas* Thunberg improved after one generation of selection. *Aquaculture* 220, 227–244. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00621-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00621-X)
- Lapègue, S., Harrang, E., Heurtebise, S., Flahauw, E., Donnadiou, C., Gayral, P., Ballenghien, M., Genestout, L., Barbotte, L., Mahla, R., Haffray, P., Klopp, C., 2014. Development of SNP-genotyping arrays in two shellfish species. *Molecular Ecology Resources* 14, 820–830. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12230>
- Lapègue, S., Heurtebise, S., Cornette, F., Guichoux, E., Gagnaire, P.-A., 2020. Genetic characterization of cupped oyster resources in Europe using informative Single Nucleotide Polymorphism (SNP) panels. *Genes* 11, 451. <https://doi.org/10.3390/genes11040451>
- Lasa, A., di Cesare, A., Tassistro, G., Borello, A., Gualdi, S., Furones, D., Carrasco, N., Cheslett, D., Brechon, A., Paillard, C., Bidault, A., Pernet, F., Canesi, L., Edomi, P., Pallavicini, A., Pruzzo, C., Vezzulli, L., 2019. Dynamics of the Pacific oyster pathobiota during mortality episodes in Europe assessed by 16S rRNA gene profiling and a new target enrichment next-generation sequencing strategy. *Environmental Microbiology* 21, 4548–4562. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14750>
- Launey, S., Hedgecock, D., 2001. High Genetic Load in the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Genetics* 159, 255–265. <https://doi.org/10.1093/genetics/159.1.255>
- Le Deuff, R.-M., Renault, T., 1999. Purification and partial genome characterization of a herpes-like virus infecting the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Journal of General Virology* 80, 1317–1322. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-80-5-1317>
- Le Guyader, F.S., Le Saux, J.-C., Ambert-Balay, K., Krol, J., Serais, O., Parnaudeau, S., Giraudon, H., Delmas, G., Pommepey, M., Pothier, P., Atmar, R.L., 2008. Aichi Virus, Norovirus, Astrovirus, Enterovirus, and Rotavirus Involved in Clinical Cases from a French Oyster-Related Gastroenteritis Outbreak. *Journal of Clinical Microbiology* 46, 4011–4017. <https://doi.org/10.1128/jcm.01044-08>
- Le Roux, F., Wegner, K.M., Polz, M.F., 2016. Oysters and *Vibrios* as a Model for Disease Dynamics in Wild Animals. *Trends in Microbiology* 24, 568–580. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.006>
- Legarra, A., Aguilar, I., Misztal, I., 2009. A relationship matrix including full pedigree and genomic information. *Journal of Dairy Science* 92, 4656–4663. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2061>
- Lemire, A., Goudenège, D., Versigny, T., Petton, B., Calteau, A., Labreuche, Y., Le Roux, F., 2015. Populations, not clones, are the unit of vibrio pathogenesis in naturally infected oysters. *ISME J* 9, 1523–1531. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.233>
- Li, D., Du, L., 2022. Recent advances of deep learning algorithms for aquacultural machine vision systems with emphasis on fish. *Artif Intell Rev* 55, 4077–4116. <https://doi.org/10.1007/s10462-021-10102-3>
- Li, H., Tao, X., Weijun, W., Bin, L., JianQiang, C., GuoHua, S., ZhaoCun, L., JianMin, Y., 2017. Analysis of heritability, genetic correlation and phenotypic correlation for growth trait in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Journal of Fisheries of China* 41, 1680–1686.
- Li, L., Guo, X., 2004. AFLP-Based Genetic Linkage Maps of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas* Thunberg. *Mar. Biotechnol.* 6, 26–36. <https://doi.org/10.1007/s10126-003-0001-0>
- Li, Q., Wang, Q., Liu, S., Kong, L., 2011. Selection response and realized heritability for growth in three stocks of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Fish Sci* 77, 643–648. <https://doi.org/10.1007/s12562-011-0369-0>
- Li, Y., Jiang, K., Li, Q., 2022. Comparative transcriptomic analyses reveal differences in the responses of diploid and triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) to thermal stress. *Aquaculture* 555, 738219. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738219>
- Li, Y., Siddiqui, G., Wikfors, G.H., 2010. Non-lethal determination of sex and reproductive condition of Eastern oysters *Crassostrea virginica* Gmelin using protein profiles of hemolymph by Proteinchip® and SELDI-TOF-MS technology. *Aquaculture* 309, 258–264. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.030>

- Li, Y., Sun, X., Hu, X., Xun, X., Zhang, J., Guo, X., Jiao, W., Zhang, Lingling, Liu, W., Wang, J., Li, J., Sun, Y., Miao, Y., Zhang, X., Cheng, T., Xu, G., Fu, X., Wang, Y., Yu, X., Huang, X., Lu, W., Lv, J., Mu, C., Wang, D., Li, X., Xia, Y., Li, Yajuan, Yang, Z., Wang, F., Zhang, Lu, Xing, Q., Dou, H., Ning, X., Dou, J., Li, Yangping, Kong, D., Liu, Y., Jiang, Z., Li, R., Wang, S., Bao, Z., 2017. Scallop genome reveals molecular adaptations to semi-sessile life and neurotoxins. *Nat Commun* 8, 1721. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01927-0>
- Linehan, L.G., O'Connor, T.P., Burnell, G., 1999. Seasonal variation in the chemical composition and fatty acid profile of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Food Chemistry* 64, 211–214. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00144-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00144-7)
- Little, T.J., Kraaijeveld, A.R., 2004. Ecological and evolutionary implications of immunological priming in invertebrates. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 58–60. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2003.11.011>
- Liu, C.-T., Deng, X., Fisher, V., Heard-Costa, N., Xu, H., Zhou, Y., Vasan, R.S., Cupples, L.A., 2019. Revisit Population-based and Family-based Genotype Imputation. *Sci Rep* 9, 1800. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38469-4>
- Liu, S., Li, L., Zhang, S., Wang, W., Yang, J., Zhang, G., 2019. Heritability estimates for nutritional quality-related traits of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Journal of the World Aquaculture Society* 50, 738–748. <https://doi.org/10.1111/jwas.12588>
- Liu, T., Li, Q., Kong, L., Yu, H., 2017. Comparison of microsatellites and SNPs for pedigree analysis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquacult Int* 25, 1507–1519. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0127-0>
- Loosanoff, V.L., Davis, H.C., 1963. Rearing of Bivalve Mollusks, in: Russell, F.S. (Ed.), *Advances in Marine Biology*. Academic Press, pp. 1–136. [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(08\)60257-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(08)60257-6)
- López Sanmartín, M., Power, D.M., de la Herrán, R., Navas, J.I., Batista, F.M., 2016. Evidence of vertical transmission of ostreid herpesvirus 1 in the Portuguese oyster *Crassostrea angulata*. *Journal of Invertebrate Pathology* 140, 39–41. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.08.012>
- Luo, Z., Yu, Y., Bao, Z., Xiang, J., Li, F., 2022. Evaluation of genomic selection for high salinity tolerance traits in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 557, 738320. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738320>
- Lupo, C., Travers, M.-A., Tourbiez, D., Barthélémy, C.F., Beaunée, G., Ezanno, P., 2019. Modeling the Transmission of *Vibrio aestuarianus* in Pacific Oysters Using Experimental Infection Data. *Frontiers in Veterinary Science* 6.
- Lynch, S.A., Carlsson, J., Reilly, A.O., Cotter, E., Culloty, S.C., 2012. A previously undescribed ostreid herpes virus 1 (OsHV-1) genotype detected in the pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Ireland. *Parasitology* 139, 1526–1532. <https://doi.org/10.1017/S0031182012000881>
- Mann, R., 1983. The Role of Introduced Bivalve Mollusc Species in Mariculture1. *Journal of the World Mariculture Society* 14, 546–559. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1983.tb00107.x>
- Marchini, J., Howie, B., 2010. Genotype imputation for genome-wide association studies. *Nat Rev Genet* 11, 499–511. <https://doi.org/10.1038/nrg2796>
- Martenot, C., Gervais, O., Chollet, B., Houssin, M., Renault, T., 2017. Haemocytes collected from experimentally infected Pacific oysters, *Crassostrea gigas*: Detection of ostreid herpesvirus 1 DNA, RNA, and proteins in relation with inhibition of apoptosis. *PLOS ONE* 12, e0177448. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177448>
- Martenot, C., Oden, E., Travaillé, E., Malas, J.-P., Houssin, M., 2011. Detection of different variants of Ostreid Herpesvirus 1 in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* between 2008 and 2010. *Virus Research* 160, 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.04.012>
- Martenot, C., Segarra, A., Baillon, L., Faury, N., Houssin, M., Renault, T., 2016. In situ localization and tissue distribution of ostreid herpesvirus 1 proteins in infected Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Journal of Invertebrate Pathology* 136, 124–135. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.04.002>

- Marzano, A., 2013. *Harvesting the sea: The exploitation of marine resources in the Roman Mediterranean*. Oxford University Press.
- McCarty, A.J., Allen, S.K., Jr., Plough, L.V., 2022. Genome-wide analysis of acute low salinity tolerance in the eastern oyster *Crassostrea virginica* and potential of genomic selection for trait improvement. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 12, jkab368. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab368>
- McCombie, H., Ledu, C., Phelipot, P., Lapègue, S., Boudry, P., Gérard, A., 2005. A Complementary Method for Production of Tetraploid *Crassostrea gigas* Using Crosses Between Diploids and Tetraploids with Cytochalasin B Treatments. *Mar Biotechnol* 7, 318–330. <https://doi.org/10.1007/s10126-004-0440-2>
- McFarland, K., Plough, L.V., Nguyen, M., Hare, M.P., 2020. Are bivalves susceptible to domestication selection? Using starvation tolerance to test for potential trait changes in eastern oyster larvae. *PLOS ONE* 15, e0230222. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230222>
- McLeod, C., Polo, D., Le Saux, J.-C., Le Guyader, F.S., 2017. Depuration and Relaying: A Review on Potential Removal of Norovirus from Oysters. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16, 692–706. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12271>
- Melillo, D., Marino, R., Italiani, P., Boraschi, D., 2018. Innate Immune Memory in Invertebrate Metazoans: A Critical Appraisal. *Frontiers in Immunology* 9.
- Mello, D.F., Danielli, N.M., Curbani, F., Pontinha, V.A., Suhnel, S., Castro, M. a. M., Medeiros, S.C., Wendt, N.C., Trevisan, R., Magalhães, A.R.M., Dafre, A.L., 2018. First evidence of viral and bacterial oyster pathogens in the Brazilian coast. *J Fish Dis* 41, 559–563. <https://doi.org/10.1111/jfd.12755>
- Melo, E.M.C., Sühnel, S., Oliveira, A.C.S. de, Lopes, B. de O., Bachi, G.C., De Melo, C.M.R., 2020. Growth, mortality and reproductive traits of diploid and triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas*, THUNBERG, 1793) in Southern Brazil. *Aquaculture Research* 51, 3631–3640. <https://doi.org/10.1111/are.14713>
- Melzner, F., Stange, P., Trübenbach, K., Thomsen, J., Casties, I., Panknin, U., Gorb, S.N., Gutowska, M.A., 2011. Food Supply and Seawater pCO₂ Impact Calcification and Internal Shell Dissolution in the Blue Mussel *Mytilus edulis*. *PLOS ONE* 6, e24223. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024223>
- Meng, J., Song, K., Li, C., Liu, S., Shi, R., Li, B., Wang, T., Li, A., Que, H., Li, L., Zhang, G., 2019. Genome-wide association analysis of nutrient traits in the oyster *Crassostrea gigas*: genetic effect and interaction network. *BMC Genomics* 20, 625. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5971-z>
- Meng, J., Wang, W., Shi, R., Song, K., Li, L., Que, H., Zhang, G., 2020. Identification of SNPs involved in Zn and Cu accumulation in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) by genome-wide association analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 192, 110208. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110208>
- Mesnil, A., Jacquot, M., Garcia, C., Tourbiez, D., Canier, L., Bidois, A., Dégremont, L., Cheslett, D., Geary, M., Vetri, A., Roque, A., Furones, D., Garden, A., Orozova, P., Arzul, I., Sicard, M., Charrière, G., Destoumieux-Garzón, D., Travers, M.-A., 2022. Emergence and clonal expansion of *Vibrio aestuarianus* lineages pathogenic for oysters in Europe (preprint). *Microbiology*. <https://doi.org/10.1101/2022.04.04.486953>
- Meuwissen, T., 2009. Genetic management of small populations: A review. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A — Animal Science* 59, 71–79. <https://doi.org/10.1080/09064700903118148>
- Meuwissen, T.H.E., Hayes, B.J., Goddard, M.E., 2001. Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. *Genetics* 157, 1819–1829. <https://doi.org/10.1093/genetics/157.4.1819>
- Meuwissen, T.H.E., Sonesson, A.K., Gebregiwergis, G., Woolliams, J.A., 2020. Management of Genetic Diversity in the Era of Genomics. *Frontiers in Genetics* 11.
- Michenet, A., Barbat, M., Saintilan, R., Venot, E., Phocas, F., 2016. Detection of quantitative trait loci for maternal traits using high-density genotypes of Blonde d'Aquitaine beef cattle. *BMC Genet* 17, 88. <https://doi.org/10.1186/s12863-016-0397-y>
- Miossec, L., Le Deuff, R.-M., Gouletquer, P., 2009. Alien species alert: *Crassostrea gigas* (Pacific oyster). ICES Cooperative Research Report 299.

- Moen, T., Torgersen, J., Santi, N., Davidson, W.S., Baranski, M., Ødegård, J., Kjøglum, S., Velle, B., Kent, M., Lubieniecki, K.P., Isdal, E., Lien, S., 2015. Epithelial Cadherin Determines Resistance to Infectious Pancreatic Necrosis Virus in Atlantic Salmon. *Genetics* 200, 1313–1326. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.175406>
- Montes, M., Farto, R., Pérez, M.J., Nieto, T.P., Larsen, J.L., Christensen, H., 2003. Characterization of *Vibrio* strains isolated from turbot (*Scophthalmus maximus*) culture by phenotypic analysis, ribotyping and 16S rRNA gene sequence comparison. *Journal of Applied Microbiology* 95, 693–703. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02028.x>
- Moreau, P., Moreau, K., Segarra, A., Tourbiez, D., Travers, M.-A., Rubinsztein, D.C., Renault, T., 2015. Autophagy plays an important role in protecting Pacific oysters from OsHV-1 and *Vibrio aestuarianus* infections. *Autophagy* 11, 516–526. <https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1017188>
- Morga, B., Faury, N., Guesdon, S., Chollet, B., Renault, T., 2017. Haemocytes from *Crassostrea gigas* and OsHV-1: A promising in vitro system to study host/virus interactions. *Journal of Invertebrate Pathology* 150, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2017.09.007>
- Mortensen, S., Strand, Å., Bodvin, T., Alfjorden, A., Skår, C.K., Jelmert, A., Aspán, A., Sælemyr, L., Naustvoll, L.-J., Albretsen, J., 2016. Summer mortalities and detection of ostreid herpesvirus microvariant in Pacific oyster *Crassostrea gigas* in Sweden and Norway. *Diseases of Aquatic Organisms* 117, 171–176. <https://doi.org/10.3354/dao02944>
- Mun, S., Kim, Y.-J., Markkandan, K., Shin, W., Oh, S., Woo, J., Yoo, J., An, H., Han, K., 2017. The Whole-Genome and Transcriptome of the Manila Clam (*Ruditapes philippinarum*). *Genome Biology and Evolution* 9, 1487–1498. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx096>
- Murgarella, M., Puiu, D., Novoa, B., Figueras, A., Posada, D., Canchaya, C., 2016. A First Insight into the Genome of the Filter-Feeder Mussel *Mytilus galloprovincialis*. *PLOS ONE* 11, e0151561. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151561>
- Naciri-Graven, Y., Martin, A.-G., Baud, J.-P., Renault, T., Gérard, A., 1998. Selecting the flat oyster *Ostrea edulis* (L.) for survival when infected with the parasite *Bonamia ostreae*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 224, 91–107. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(97\)00171-8](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(97)00171-8)
- Nascimento-Schulze, J.C., Bean, T.P., Houston, R.D., Santos, E.M., Sanders, M.B., Lewis, C., Ellis, R.P., 2021. Optimizing hatchery practices for genetic improvement of marine bivalves. *Reviews in Aquaculture* 13, 2289–2304. <https://doi.org/10.1111/raq.12568>
- Nell, J.A., 2002. Farming triploid oysters. *Aquaculture* 210, 69–88. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00861-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00861-4)
- Nell, J.A., Hand, R.E., 2003. Evaluation of the progeny of second-generation Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850) breeding lines for resistance to QX disease *Marteilia sydneyi*. *Aquaculture* 228, 27–35. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00133-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00133-9)
- Nicolas, J.L., Comps, M., Cochennec, N., 1992. Herpes-like virus infecting Pacific-oyster larvae, *Crassostrea gigas*. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists (United Kingdom)*.
- Normand, J., Blin, J.-L., Jouaux, A., 2014. Rearing practices identified as risk factors for ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) infection in Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat. *Diseases of Aquatic Organisms* 110, 201–211. <https://doi.org/10.3354/dao02756>
- Normand, J., Ernande, B., Haure, J., McCombie, H., Boudry, P., 2009. Reproductive effort and growth in *Crassostrea gigas*: comparison of young diploid and triploid oysters issued from natural crosses or chemical induction. *Aquatic Biology* 7, 229–241. <https://doi.org/10.3354/ab00190>
- Ødegård, J., Moen, T., Santi, N., Korsvoll, S.A., Kjøglum, S., Meuwissen, T.H.E., 2014. Genomic prediction in an admixed population of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Frontiers in Genetics* 5.
- Osborn, T.C., Chris Pires, J., Birchler, J.A., Auger, D.L., Jeffery Chen, Z., Lee, H.-S., Comai, L., Madlung, A., Doerge, R.W., Colot, V., Martienssen, R.A., 2003. Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. *Trends in Genetics* 19, 141–147. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(03\)00015-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(03)00015-5)

- Palaiokostas, C., Kocour, M., Prchal, M., Houston, R.D., 2018. Accuracy of Genomic Evaluations of Juvenile Growth Rate in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Using Genotyping by Sequencing. *Frontiers in Genetics* 9.
- Palaiokostas, C., Vesely, T., Kocour, M., Prchal, M., Pokorova, D., Piackova, V., Pojezdal, L., Houston, R.D., 2019. Optimizing Genomic Prediction of Host Resistance to Koi Herpesvirus Disease in Carp. *Frontiers in Genetics* 10.
- Parizadeh, L., Tourbiez, D., Garcia, C., Haffner, P., Dégremont, L., Le Roux, F., Travers, M.-A., 2018. Ecologically realistic model of infection for exploring the host damage caused by *Vibrio aestuarianus*. *Environmental Microbiology* 20, 4343–4355. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14350>
- Paul-Pont, I., Dhand, N.K., Whittington, R.J., 2013. Influence of husbandry practices on OsHV-1 associated mortality of Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 412–413, 202–214. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.038>
- Paul-Pont, I., Evans, O., Dhand, N.K., Rubio, A., Coad, P., Whittington, R.J., 2014. Descriptive epidemiology of mass mortality due to Ostreid herpesvirus-1 (OsHV-1) in commercially farmed Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) in the Hawkesbury River estuary, Australia. *Aquaculture* 422–423, 146–159. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.009>
- Peeler, E.J., Allan Reese, R., Cheslett, D.L., Geoghegan, F., Power, A., Thrush, M.A., 2012. Investigation of mortality in Pacific oysters associated with Ostreid herpesvirus-1 μ Var in the Republic of Ireland in 2009. *Preventive Veterinary Medicine* 105, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.02.001>
- Peñaloza, C., Barria, A., Papadopoulou, A., Hooper, C., Preston, J., Green, M., Helmer, L., Kean-Hammerson, J., Nascimento-Schulze, J.C., Minardi, D., Gundappa, M.K., Macqueen, D.J., Hamilton, J., Houston, R.D., Bean, T.P., 2022. Genome-Wide Association and Genomic Prediction of Growth Traits in the European Flat Oyster (*Ostrea edulis*). *Frontiers in Genetics* 13.
- Peñaloza, C., Gutierrez, A.P., Eöry, L., Wang, S., Guo, X., Archibald, A.L., Bean, T.P., Houston, R.D., 2021. A chromosome-level genome assembly for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *GigaScience* 10, giab020. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab020>
- Pernet, F., Barret, J., Gall, P.L., Corporeau, C., Dégremont, L., Lagarde, F., Pépin, J.-F., Keck, N., 2012. Mass mortalities of Pacific oysters *Crassostrea gigas* reflect infectious diseases and vary with farming practices in the Mediterranean Thau lagoon, France. *Aquaculture Environment Interactions* 2, 215–237. <https://doi.org/10.3354/aei00041>
- Pernet, F., Tamayo, D., Fuhrmann, M., Petton, B., 2019. Deciphering the effect of food availability, growth and host condition on disease susceptibility in a marine invertebrate. *Journal of Experimental Biology* 222, jeb210534. <https://doi.org/10.1242/jeb.210534>
- Pernet, F., Tamayo, D., Petton, B., 2015. Influence of low temperatures on the survival of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) infected with ostreid herpes virus type 1. *Aquaculture* 445, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.04.010>
- Petton, B., Alunno-Bruscia, M., Mitta, G., Pernet, F., 2023. Increased growth metabolism promotes viral infection in a susceptible oyster population. *Aquaculture Environment Interactions* 15, 19–33. <https://doi.org/10.3354/aei00450>
- Petton, B., Bruto, M., James, A., Labreuche, Y., Alunno-Bruscia, M., Le Roux, F., 2015. *Crassostrea gigas* mortality in France: the usual suspect, a herpes virus, may not be the killer in this polymicrobial opportunistic disease. *Frontiers in Microbiology* 6.
- Petton, B., Destoumieux-Garzón, D., Pernet, F., Toulza, E., de Lorgeril, J., Degremont, L., Mitta, G., 2021a. The Pacific Oyster Mortality Syndrome, a Polymicrobial and Multifactorial Disease: State of Knowledge and Future Directions. *Frontiers in Immunology* 12.
- Petton, B., Destoumieux-Garzón, D., Pernet, F., Toulza, E., de Lorgeril, J., Degremont, L., Mitta, G., 2021b. The Pacific Oyster Mortality Syndrome, a Polymicrobial and Multifactorial Disease: State of Knowledge and Future Directions. *Frontiers in Immunology* 12.

- Petton, B., Lorgeril, J. de, Mittra, G., Daigle, G., Pernet, F., Alunno-Bruscia, M., 2019. Fine-scale temporal dynamics of herpes virus and vibrios in seawater during a polymicrobial infection in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Diseases of Aquatic Organisms* 135, 97–106. <https://doi.org/10.3354/dao03384>
- Petton, B., Pernet, F., Robert, R., Boudry, P., 2013. Temperature influence on pathogen transmission and subsequent mortalities in juvenile Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Aquaculture Environment Interactions* 3, 257–273. <https://doi.org/10.3354/aei00070>
- Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J.-C., Flajšhans, M., Haffray, P., Colombo, L., 2009. Polyploid fish and shellfish: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquaculture* 293, 125–156. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.04.036>
- Pino-Querido, A., Álvarez-Castro, J.M., Guerra-Varela, J., Toro, M.A., Vera, M., Pardo, B.G., Fuentes, J., Blanco, J., Martínez, P., 2015. Heritability estimation for okadaic acid algal toxin accumulation, mantle color and growth traits in Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*). *Aquaculture* 440, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.032>
- Plough, L.V., 2016. Genetic load in marine animals: a review. *Current Zoology* 62, 567–579. <https://doi.org/10.1093/cz/zow096>
- Plough, L.V., Hedgecock, D., 2011. Quantitative Trait Locus Analysis of Stage-Specific Inbreeding Depression in the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Genetics* 189, 1473–1486. <https://doi.org/10.1534/genetics.111.131854>
- Potts, R.W.A., Gutierrez, A.P., Penalzoza, C.S., Regan, T., Bean, T.P., Houston, R.D., 2021. Potential of genomic technologies to improve disease resistance in molluscan aquaculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 376, 20200168. <https://doi.org/10.1098/rstb.2020.0168>
- Pousse, É., Flye-Sainte-Marie, J., Alunno-Bruscia, M., Hégaret, H., Jean, F., 2018. Sources of paralytic shellfish toxin accumulation variability in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Toxicon* 144, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.12.050>
- Pouvreau, S., Lapègue, S., Arzul, I., Boudry, P., 2023. Fifty years of research to counter the decline of the European flat oyster (*Ostrea edulis*): a review of French achievements and prospects for the restoration of remaining beds and revival of aquaculture production. *Aquatic Living Resources* 36, 13. <https://doi.org/10.1051/alr/2023006>
- Powell, D., Subramanian, S., Suwansa-ard, S., Zhao, M., O'Connor, W., Raftos, D., Elizur, A., 2018. The genome of the oyster *Saccostrea* offers insight into the environmental resilience of bivalves. *DNA Research* 25, 655–665. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsy032>
- Prado, S., Dubert, J., Barja, J.L., 2015. Characterization of pathogenic vibrios isolated from bivalve hatcheries in Galicia, NW Atlantic coast of Spain. Description of *Vibrio tubiashii* subsp. *europaensis* subsp. nov. *Systematic and Applied Microbiology* 38, 26–29. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2014.11.005>
- Qi, H., Li, L., Zhang, G., 2021. Construction of a chromosome-level genome and variation map for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Molecular Ecology Resources* 21, 1670–1685. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13368>
- Qi, H., Song, K., Li, C., Wang, W., Li, B., Li, L., Zhang, G., 2017. Construction and evaluation of a high-density SNP array for the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *PLOS ONE* 12, e0174007. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174007>
- Rahman, M.A., Henderson, S., Miller-Ezzy, P., Li, X.X., Qin, J.G., 2019. Immune response to temperature stress in three bivalve species: Pacific oyster *Crassostrea gigas*, Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and mud cockle *Katylsia rhytiphora*. *Fish & Shellfish Immunology* 86, 868–874. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.12.017>
- Rato, A., Joaquim, S., Matias, A.M., Roque, C., Marques, A., Matias, D., 2022. The Impact of Climate Change on Bivalve Farming: Combined Effect of Temperature and Salinity on Survival and Feeding Behavior of Clams *Ruditapes decussatus*. *Frontiers in Marine Science* 9.

- Regan, T., Stevens, L., Peñaloza, C., Houston, R.D., Robledo, D., Bean, T.P., 2021. Ancestral Physical Stress and Later Immune Gene Family Expansions Shaped Bivalve Mollusc Evolution. *Genome Biology and Evolution* 13, evab177. <https://doi.org/10.1093/gbe/evab177>
- Reise, K., van Beusekom, J.E.E., 2008. Interactive effects of global and regional change on a coastal ecosystem. *Helgol Mar Res* 62, 85–91. <https://doi.org/10.1007/s10152-007-0102-7>
- Renault, T., 2015. Immunotoxicological effects of environmental contaminants on marine bivalves. *Fish & Shellfish Immunology, SI: Molluscan Immunity* 46, 88–93. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.04.011>
- Renault, T., 1996. Appearance and spread of diseases among bivalve molluscs in the northern hemisphere in relation to international trade. *Revue Scientifique Et Technique-office International Des Epizooties* 15, 551–561.
- Renault, T., Arzul, I., 2001. Herpes-like virus infections in hatchery-reared bivalve larvae in Europe: specific viral DNA detection by PCR. *Journal of Fish Diseases* 24, 161–167.
- Renault, T., Bouquet, A.L., Maurice, J.-T., Lupo, C., Blachier, P., 2014. Ostreid Herpesvirus 1 Infection among Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*) Spat: Relevance of Water Temperature to Virus Replication and Circulation Prior to the Onset of Mortality. *Applied and Environmental Microbiology* 80, 5419–5426. <https://doi.org/10.1128/AEM.00484-14>
- Renault, T., Cochenec, N., Le Deuff, R.-M., Chollet, B., 1994. Herpes-like virus infecting Japanese oyster (*Crassostrea gigas*) spat. *Bulletin Of The European Association Of Fish Pathologists* 14, 64–66.
- Renault, T., Deuff, R.-M.L., Chollet, B., Cochenec, N., Gérard, A., 2000. Concomitant herpes-like virus infections in hatchery-reared larvae and nursery-cultured spat *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 42, 173–183. <https://doi.org/10.3354/dao042173>
- Renault, T., Le Deuff, R.M., Cochenec, N., Chollet, B., Maffart, P., 1995. Herpes-like viruses associated with high mortality levels in larvae and spat of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*: a comparative study, the thermal effects on virus detection in hatchery-reared larvae, reproduction of the disease in axenic larvae. *Vet Res* 26, 539–543.
- Rexroad, C., Vallet, J., Matukumalli, L.K., Reecy, J., Bickhart, D., Blackburn, H., Boggess, M., Cheng, H., Clutter, A., Cockett, N., Ernst, C., Fulton, J.E., Liu, J., Lunney, J., Neibergs, H., Purcell, C., Smith, T.P.L., Sonstegard, T., Taylor, J., Telugu, B., Eenennaam, A.V., Tassell, C.P.V., Wells, K., 2019. Genome to Phenome: Improving Animal Health, Production, and Well-Being – A New USDA Blueprint for Animal Genome Research 2018–2027. *Frontiers in Genetics* 10.
- Richards, G.P., Watson, M.A., Needleman, D.S., Church, K.M., Häse, C.C., 2015. Mortalities of Eastern and Pacific Oyster Larvae Caused by the Pathogens *Vibrio coralliilyticus* and *Vibrio tubiashii*. *Applied and Environmental Microbiology* 81, 292–297. <https://doi.org/10.1128/AEM.02930-14>
- Robert, J., 2003. Evolution of heat shock protein and immunity. *Developmental & Comparative Immunology* 27, 449–464. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(02\)00160-X](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(02)00160-X)
- Robert, R., Gérard, A., 1999. Bivalve hatchery technology: The current situation for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the scallop *Pecten maximus* in France. *Aquatic Living Resources* 12, 121–130. [https://doi.org/10.1016/S0990-7440\(99\)80021-7](https://doi.org/10.1016/S0990-7440(99)80021-7)
- Robert, R., Trut, G., Borel, M., Maurer, D., 1993. Growth, fatness and gross biochemical composition of the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*, in Stanway cylinders in the Bay of Arcachon, France. *Aquaculture* 110, 249–261. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(93\)90373-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90373-7)
- Robledo, D., Matika, O., Hamilton, A., Houston, R.D., 2018. Genome-Wide Association and Genomic Selection for Resistance to Amoebic Gill Disease in Atlantic Salmon. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 8, 1195–1203. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200075>
- Rohfritsch, A., Bierne, N., Boudry, P., Heurtebise, S., Cornette, F., Lapègue, S., 2013. Population genomics shed light on the demographic and adaptive histories of European invasion in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Evolutionary Applications* 6, 1064–1078. <https://doi.org/10.1111/eva.12086>

- Roque, A., Carrasco, N., Andree, K.B., Lacuesta, B., Elandaloussi, L., Gairin, I., Rodgers, C.J., Furones, M.D., 2012. First report of OsHV-1 microvar in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) cultured in Spain. *Aquaculture* 324–325, 303–306. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.10.018>
- Roux, F.L., Gay, M., Lambert, C., Waechter, M., Poubalanne, S., Chollet, B., Nicolas, J.-L., Berthe, F., 2002. Comparative analysis of *Vibrio splendidus*-related strains isolated during *Crassostrea gigas* mortality events. *Aquatic Living Resources* 15, 251–258. [https://doi.org/10.1016/S0990-7440\(02\)01176-2](https://doi.org/10.1016/S0990-7440(02)01176-2)
- Saberioon, M., Gholizadeh, A., Cisar, P., Pautsina, A., Urban, J., 2017. Application of machine vision systems in aquaculture with emphasis on fish: state-of-the-art and key issues. *Reviews in Aquaculture* 9, 369–387. <https://doi.org/10.1111/raq.12143>
- Salvador de Paiva, J.N., Walles, B., Ysebaert, T., Bouma, T.J., 2018. Understanding the conditionality of ecosystem services: The effect of tidal flat morphology and oyster reef characteristics on sediment stabilization by oyster reefs. *Ecological Engineering* 112, 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.12.020>
- Salvi, D., Macali, A., Mariottini, P., 2014. Molecular Phylogenetics and Systematics of the Bivalve Family Ostreidae Based on rRNA Sequence-Structure Models and Multilocus Species Tree. *PLOS ONE* 9, e108696. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108696>
- Salvi, D., Mariottini, P., 2017. Molecular taxonomy in 2D: a novel ITS2 rRNA sequence-structure approach guides the description of the oysters' subfamily Saccostreinae and the genus *Magallana* (Bivalvia: Ostreidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 179, 263–276. <https://doi.org/10.1111/zoj.12455>
- Samain, J.-F., McCombie, H., 2008. Summer Mortality of Pacific Oyster *Crassostrea Gigas*: The Morest Project. Editions Quae.
- Sanchez, M.-P., Govignon-Gion, A., Croiseau, P., Fritz, S., Hozé, C., Miranda, G., Martin, P., Barbat-Leterrier, A., Letaïef, R., Rocha, D., Brochard, M., Boussaha, M., Boichard, D., 2017. Within-breed and multi-breed GWAS on imputed whole-genome sequence variants reveal candidate mutations affecting milk protein composition in dairy cattle. *Genetics Selection Evolution* 49, 68. <https://doi.org/10.1186/s12711-017-0344-z>
- Santerre, C., Sourdain, P., Marc, N., Mingant, C., Robert, R., Martinez, A.-S., 2013. Oyster sex determination is influenced by temperature — First clues in spat during first gonadic differentiation and gametogenesis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 165, 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.02.007>
- Saulnier, D., De Decker, S., Haffner, P., 2009. Real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Vibrio aestuarianus* in oyster and seawater: A useful tool for epidemiologic studies. *Journal of Microbiological Methods* 77, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.01.021>
- Saulnier, D., De Decker, S., Haffner, P., Cobret, L., Robert, M., Garcia, C., 2010. A Large-Scale Epidemiological Study to Identify Bacteria Pathogenic to Pacific Oyster *Crassostrea gigas* and Correlation Between Virulence and Metalloprotease-like Activity. *Microb Ecol* 59, 787–798. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9620-y>
- Sauvage, C., Boudry, P., De Koning, D.-J., Haley, C.S., Heurtebise, S., Lapègue, S., 2010. QTL for resistance to summer mortality and OsHV-1 load in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Animal Genetics* 41, 390–399. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2009.02018.x>
- Sauvage, C., Pépin, J.F., Lapègue, S., Boudry, P., Renault, T., 2009. Ostreid herpes virus 1 infection in families of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, during a summer mortality outbreak: Differences in viral DNA detection and quantification using real-time PCR. *Virus Research* 142, 181–187. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.02.013>
- Schikorski, D., Faury, N., Pepin, J.F., Saulnier, D., Tourbiez, D., Renault, T., 2011. Experimental ostreid herpesvirus 1 infection of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: Kinetics of virus DNA detection by q-PCR in seawater and in oyster samples. *Virus Research* 155, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.031>
- Schmitt, P., Rosa, R., Duperthuy, M., de Lorgeril, J., Bachère, E., Destoumieux-Garzon, D., 2012. The Antimicrobial Defense of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. How Diversity may Compensate for Scarcity in the Regulation of Resident/Pathogenic Microflora. *Frontiers in Microbiology* 3.

- Schneider, D.S., Ayres, J.S., 2008. Two ways to survive infection: what resistance and tolerance can teach us about treating infectious diseases. *Nat Rev Immunol* 8, 889–895. <https://doi.org/10.1038/nri2432>
- Segarra, A., Faury, N., Pépin, J.-F., Renault, T., 2014a. Transcriptomic study of 39 ostreid herpesvirus 1 genes during an experimental infection. *Journal of Invertebrate Pathology* 119, 5–11. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2014.03.002>
- Segarra, A., Mauduit, F., Faury, N., Trancart, S., Dégremont, L., Tourbiez, D., Haffner, P., Barbosa-Solomieu, V., Pépin, J.-F., Travers, M.-A., Renault, T., 2014b. Dual transcriptomics of virus-host interactions: comparing two Pacific oyster families presenting contrasted susceptibility to ostreid herpesvirus 1. *BMC Genomics* 15, 580. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-580>
- Segarra, A., Pépin, J.F., Arzul, I., Morga, B., Faury, N., Renault, T., 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 Research* 153, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.011>
- Sendra, M., Sparaventi, E., Novoa, B., Figueras, A., 2021. An overview of the internalization and effects of microplastics and nanoplastics as pollutants of emerging concern in bivalves. *Science of The Total Environment* 753, 142024. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142024>
- Shi, R., Li, C., Qi, H., Liu, S., Wang, W., Li, L., Zhang, G., 2020. Construction of a high-resolution genetic map of *Crassostrea gigas*: QTL mapping and GWAS applications revealed candidate genes controlling nutritional traits. *Aquaculture* 527, 735427. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735427>
- Shimahara, Y., Kurita, J., Kiryu, I., Nishioka, T., Yuasa, K., Kawana, M., Kamaishi, T., Oseko, N., 2012. Surveillance of Type 1 Ostreid Herpesvirus (OsHV-1) Variants in Japan. *魚病研究* 47, 129–136. <https://doi.org/10.3147/jsfp.47.129>
- Silva, P.M. da, Renault, T., Fuentes, J., Villalba, A., 2008. Herpesvirus infection in European flat oysters *Ostrea edulis* obtained from brood stocks of various geographic origins and grown in Galicia (NW Spain). *Diseases of Aquatic Organisms* 78, 181–188. <https://doi.org/10.3354/dao01874>
- Snieszko, S.F., 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes*. *Journal of Fish Biology* 6, 197–208. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1974.tb04537.x>
- Sonesson, A.K., Meuwissen, T.H., 2009. Testing strategies for genomic selection in aquaculture breeding programs. *Genet Sel Evol* 41, 37. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-41-37>
- Sonesson, A.K., Ødegård, J., 2016. Mating structures for genomic selection breeding programs in aquaculture. *Genet Sel Evol* 48, 46. <https://doi.org/10.1186/s12711-016-0224-y>
- Song, H., Dong, T., Yan, X., Wang, W., Tian, Z., Sun, A., Dong, Y., Zhu, H., Hu, H., 2023. Genomic selection and its research progress in aquaculture breeding. *Reviews in Aquaculture* 15, 274–291. <https://doi.org/10.1111/raq.12716>
- Song, H., Hu, H., 2022a. Strategies to improve the accuracy and reduce costs of genomic prediction in aquaculture species. *Evolutionary Applications* 15, 578–590. <https://doi.org/10.1111/eva.13262>
- Song, H., Hu, H., 2022b. Impact of accounting for allele dosage on genomic prediction in a simulated autopolyploid sturgeon population. *Aquaculture* 548, 737626. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737626>
- Song, J., Li, Q., Yu, Y., Wan, S., Han, L., Du, S., 2018. Mapping Genetic Loci for Quantitative Traits of Golden Shell Color, Mineral Element Contents, and Growth-Related Traits in Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). *Mar Biotechnol* 20, 666–675. <https://doi.org/10.1007/s10126-018-9837-1>
- Song, Y.P., Suquet, M., Quéau, I., Lebrun, L., 2009. Setting of a procedure for experimental fertilisation of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) oocytes. *Aquaculture* 287, 311–314. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.018>
- Soon, T.K., Ransangan, J., 2019. Extrinsic Factors and Marine Bivalve Mass Mortalities: An Overview. *shre* 38, 223–232. <https://doi.org/10.2983/035.038.0202>

- Sorée, M., Le Meleder, A., Maurouard, E., Lozach, S., Papin, M., Stavrakakis, C., Audemard, C., Heath, D.H., Dégremont, L., 2023. Effect of ploidy level on accumulation and depuration of *Vibrio parahaemolyticus* in Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 563, 738992. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738992>
- Symonds, J., King, N., Camara, M., Ragg, N., Hilton, Z., Walker, S., Roberts, R., Malpot, E., Preece, M., Amer, P., Hely, F., Clarke, S., Dodds, K., Tate, M., Buxton, P., 2018. New Zealand aquaculture selective breeding: from theory to industry application for three flagship species.
- Tan, K., Zhang, H., Zheng, H., 2020. Selective breeding of edible bivalves and its implication of global climate change. *Reviews in Aquaculture* 12, 2559–2572. <https://doi.org/10.1111/raq.12458>
- Tan, K., Zheng, H., 2020. Ocean acidification and adaptive bivalve farming. *Science of The Total Environment* 701, 134794. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134794>
- Tanyaros, S., Tarangkoon, W., 2016. Variability in larval period, post-setting growth and survival of the oyster *Crassostrea belcheri* produced by gamete stripping method. *Agriculture and Natural Resources* 50, 295–298. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2016.10.002>
- Taris, N., Batista, F.M., Boudry, P., 2007. Evidence of response to unintentional selection for faster development and inbreeding depression in *Crassostrea gigas* larvae. *Aquaculture, Supplement: Genetics in Aquaculture IX* 272, S69–S79. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.010>
- Tetreau, G., Dhinaut, J., Gourbal, B., Moret, Y., 2019. Trans-generational Immune Priming in Invertebrates: Current Knowledge and Future Prospects. *Frontiers in Immunology* 10.
- THIRIOT-QUIEVREUX, C., 1984. Analyse comparée des caryotypes d'Ostreidae (Bivalvia). *Cah. biol. mar* 25, 407–418.
- Tison, D.L., Seidler, R.J., 1983. *Vibrio aestuarianus*: a New Species from Estuarine Waters and Shellfish†. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 33, 699–702. <https://doi.org/10.1099/00207713-33-4-699>
- Toulhoat, L., 2008. Eléments de compréhension des stratégies de captage naturel de l'huître creuse (*Crassostrea gigas*) des ostréiculteurs de Charente- Maritime.
- Travers, M.-A., Boettcher Miller, K., Roque, A., Friedman, C.S., 2015. Bacterial diseases in marine bivalves. *Journal of Invertebrate Pathology, Pathogens and Disease Processes in Marine Molluscs* 131, 11–31. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.010>
- Travers, M.-A., Tourbiez, D., Parizadeh, L., Haffner, P., Kozic-Djellouli, A., Aboubaker, M., Koken, M., Dégremont, L., Lupo, C., 2017. Several strains, one disease: experimental investigation of *Vibrio aestuarianus* infection parameters in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Vet Res* 48, 32. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0438-1>
- Troost, K., 2010. Causes and effects of a highly successful marine invasion: Case-study of the introduced Pacific oyster *Crassostrea gigas* in continental NW European estuaries. *Journal of Sea Research* 64, 145–165. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2010.02.004>
- Trotter, A.J., Vignier, J., Wilson, T.K., Douglas, M., Adams, S.L., King, N., Cunningham, M.P., Carter, C.G., Boudry, P., Petton, B., Dégremont, L., Smith, G.G., Pernet, F., 2021. Case study of vertical transmission of ostreid herpesvirus-1 in Pacific oysters and biosecurity management based on epidemiological data from French, New Zealand and Australian hatchery-propagated seed. *Aquaculture Research* 52, 4012–4017. <https://doi.org/10.1111/are.15219>
- Tsai, H.-Y., Hamilton, A., Tinch, A.E., Guy, D.R., Bron, J.E., Taggart, J.B., Gharbi, K., Stear, M., Matika, O., Pong-Wong, R., Bishop, S.C., Houston, R.D., 2016. Genomic prediction of host resistance to sea lice in farmed Atlantic salmon populations. *Genetics Selection Evolution* 48, 47. <https://doi.org/10.1186/s12711-016-0226-9>

- Tsai, H.-Y., Hamilton, A., Tinch, A.E., Guy, D.R., Gharbi, K., Stear, M.J., Matika, O., Bishop, S.C., Houston, R.D., 2015. Genome wide association and genomic prediction for growth traits in juvenile farmed Atlantic salmon using a high density SNP array. *BMC Genomics* 16, 969. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2117-9>
- Tsai, H.-Y., Matika, O., Edwards, S.M., Antolín-Sánchez, R., Hamilton, A., Guy, D.R., Tinch, A.E., Gharbi, K., Stear, M.J., Taggart, J.B., Bron, J.E., Hickey, J.M., Houston, R.D., 2017. Genotype Imputation To Improve the Cost-Efficiency of Genomic Selection in Farmed Atlantic Salmon. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 7, 1377–1383. <https://doi.org/10.1534/g3.117.040717>
- Tsairidou, S., Hamilton, A., Robledo, D., Bron, J.E., Houston, R.D., 2020. Optimizing Low-Cost Genotyping and Imputation Strategies for Genomic Selection in Atlantic Salmon. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 10, 581–590. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400800>
- van der Schatte Olivier, A., Jones, L., Vay, L.L., Christie, M., Wilson, J., Malham, S.K., 2020. A global review of the ecosystem services provided by bivalve aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 12, 3–25. <https://doi.org/10.1111/raq.12301>
- Vandeputte, M., Haffray, P., 2014. Parentage assignment with genomic markers: a major advance for understanding and exploiting genetic variation of quantitative traits in farmed aquatic animals. *Frontiers in Genetics* 5.
- VanRaden, P.M., 2008. Efficient Methods to Compute Genomic Predictions. *Journal of Dairy Science* 91, 4414–4423. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0980>
- Vasquez-Yeomans, R., Caceres-Martinez, J., Huerta, A.F., 2004. Herpes-like virus associated with eroded gills of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in Mexico. *Journal of Shellfish Research* 23, 417–420.
- Vendrami, D.L.J., Houston, R.D., Gharbi, K., Telesca, L., Gutierrez, A.P., Gurney-Smith, H., Hasegawa, N., Boudry, P., Hoffman, J.I., 2019. Detailed insights into pan-European population structure and inbreeding in wild and hatchery Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) revealed by genome-wide SNP data. *Evolutionary Applications* 12, 519–534. <https://doi.org/10.1111/eva.12736>
- Vezzulli, L., Pezzati, E., Stauder, M., Stagnaro, L., Venier, P., Pruzzo, C., 2015. Aquatic ecology of the oyster pathogens *Vibrio splendidus* and *Vibrio aestuarianus*. *Environmental Microbiology* 17, 1065–1080. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12484>
- Vikas, M., Dwarakish, G.S., 2015. Coastal Pollution: A Review. *Aquatic Procedia, INTERNATIONAL CONFERENCE ON WATER RESOURCES, COASTAL AND OCEAN ENGINEERING (ICWRCOE'15)* 4, 381–388. <https://doi.org/10.1016/j.aqpro.2015.02.051>
- Vu, S.V., Gondro, C., Nguyen, N.T.H., Gilmour, A.R., Tearle, R., Knibb, W., Dove, M., Vu, I.V., Khuong, L.D., O'Connor, W., 2021a. Prediction Accuracies of Genomic Selection for Nine Commercially Important Traits in the Portuguese Oyster (*Crassostrea angulata*) Using DArT-Seq Technology. *Genes* 12, 210. <https://doi.org/10.3390/genes12020210>
- Vu, S.V., Knibb, W., Gondro, C., Subramanian, S., Nguyen, N.T.H., Alam, M., Dove, M., Gilmour, A.R., Vu, I.V., Bhyan, S., Tearle, R., Khuong, L.D., Le, T.S., O'Connor, W., 2021b. Genomic Prediction for Whole Weight, Body Shape, Meat Yield, and Color Traits in the Portuguese Oyster *Crassostrea angulata*. *Frontiers in Genetics* 12.
- Wan, S., Li, Q., Yu, H., Liu, S., Kong, L., 2020. Estimating heritability for meat composition traits in the golden shell strain of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 516, 734532. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734532>
- Wang, J., Li, Q., Zhong, X., Song, J., Kong, L., Yu, H., 2018. An integrated genetic map based on EST-SNPs and QTL analysis of shell color traits in Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 492, 226–236. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.04.018>
- Wang, L., Song, X., Song, L., 2018. The oyster immunity. *Developmental & Comparative Immunology, Aqua species immunity* 80, 99–118. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.05.025>

- Wang, Meng, J., Weng, N., 2018. Trace metals in oysters: molecular and cellular mechanisms and ecotoxicological impacts. *Environ. Sci.: Processes Impacts* 20, 892–912. <https://doi.org/10.1039/C8EM00069G>
- Wang, S., Zhang, J., Jiao, W., Li, J., Xun, X., Sun, Y., Guo, X., Huan, P., Dong, B., Zhang, L., Hu, X., Sun, X., Wang, J., Zhao, C., Wang, Y., Wang, D., Huang, X., Wang, R., Lv, J., Li, Yuli, Zhang, Z., Liu, B., Lu, W., Hui, Y., Liang, J., Zhou, Z., Hou, R., Li, Xue, Liu, Y., Li, H., Ning, X., Lin, Y., Zhao, L., Xing, Q., Dou, J., Li, Yangping, Mao, J., Guo, H., Dou, H., Li, T., Mu, C., Jiang, W., Fu, Q., Fu, X., Miao, Y., Liu, J., Yu, Q., Li, Ruoqiao, Liao, H., Li, Xuan, Kong, Y., Jiang, Z., Chourrout, D., Li, Ruiqiang, Bao, Z., 2017. Scallop genome provides insights into evolution of bilaterian karyotype and development. *Nat Ecol Evol* 1, 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0120>
- Wang, Y., Leung, P.C., Qian, P.-Y., Gu, J.-D., 2006. Antibiotic resistance and plasmid profile of environmental isolates of *Vibrio* species from Mai Po Nature Reserve, Hong Kong. *Ecotoxicology* 15, 371–378. <https://doi.org/10.1007/s10646-006-0078-0>
- Wang, Z., Liu, Y., Zheng, Z., Deng, Y., 2022. A genome-wide association study identifies SNPs and candidate genes associated with nacre color of pearl oyster *Pinctada fucata martensii*. *Aquaculture* 561, 738743. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738743>
- Wolc, A., Arango, J., Settar, P., Fulton, J.E., O’Sullivan, N.P., Preisinger, R., Habier, D., Fernando, R., Garrick, D.J., Dekkers, J.C., 2011. Persistence of accuracy of genomic estimated breeding values over generations in layer chickens. *Genet Sel Evol* 43, 23. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-43-23>
- Wolc, A., Kranis, A., Settar, P., Fulton, J.E., O’Sullivan, N.P., Watson, K., Hickey, J., Campos, G. de los, Fernando, R.L., Garrick, D.J., Dekkers, J.C.M., 2016. Implementation of genomic selection in the poultry industry. *Animal Frontiers* 6, 23–31. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0004>
- Xia, J., Bai, C., Wang, C., Song, X., Huang, J., 2015. Complete genome sequence of Ostreid herpesvirus-1 associated with mortalities of *Scapharca broughtonii* broodstocks. *Virol J* 12, 110. <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0334-0>
- Xing, D., Li, Q., Kong, L., Yu, H., 2018. Heritability estimate for mantle edge pigmentation and correlation with shell pigmentation in the white-shell strain of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 482, 73–77. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.026>
- Xu, L., Li, Q., Yu, H., Kong, L., 2017. Estimates of Heritability for Growth and Shell Color Traits and Their Genetic Correlations in the Black Shell Strain of Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Mar Biotechnol* 19, 421–429. <https://doi.org/10.1007/s10126-017-9772-6>
- Yáñez, J.M., Barría, A., López, M.E., Moen, T., Garcia, B.F., Yoshida, G.M., Xu, P., 2022. Genome-wide association and genomic selection in aquaculture. *Reviews in Aquaculture* n/a. <https://doi.org/10.1111/raq.12750>
- Yang, B., Zhai, S., Zhang, F., Wang, H., Ren, L., Li, Y., Li, Q., Liu, S., 2022. Genome-wide association study toward efficient selection breeding of resistance to *Vibrio alginolyticus* in Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 548, 737592. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737592>
- Yin, X., Arias-Pérez, A., Kitapci, T.H., Hedgecock, D., 2020. High-Density Linkage Maps Based on Genotyping-by-Sequencing (GBS) Confirm a Chromosome-Level Genome Assembly and Reveal Variation in Recombination Rate for the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 10, 4691–4705. <https://doi.org/10.1534/g3.120.401728>
- Yoshida, G.M., Carvalheiro, R., Lhorente, J.P., Correa, K., Figueroa, R., Houston, R.D., Yáñez, J.M., 2018. Accuracy of genotype imputation and genomic predictions in a two-generation farmed Atlantic salmon population using high-density and low-density SNP panels. *Aquaculture* 491, 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.004>
- Yoshida, G.M., Lhorente, J.P., Correa, K., Soto, J., Salas, D., Yáñez, J.M., 2019. Genome-Wide Association Study and Cost-Efficient Genomic Predictions for Growth and Fillet Yield in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *G3 Genes|Genomes|Genetics* 9, 2597–2607. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400116>

- Zenger, K.R., Khatkar, M.S., Jones, D.B., Khalilisamani, N., Jerry, D.R., Raadsma, H.W., 2019. Genomic Selection in Aquaculture: Application, Limitations and Opportunities With Special Reference to Marine Shrimp and Pearl Oysters. *Frontiers in Genetics* 9.
- Zhai, S., Yang, B., Zhang, F., Li, Q., Liu, S., 2021. Estimation of genetic parameters for resistance to *Vibrio alginolyticus* infection in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 538, 736545. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736545>
- Zhang, Guofan, Fang, X., Guo, X., Li, L., Luo, R., Xu, F., Yang, P., Zhang, L., Wang, X., Qi, H., Xiong, Z., Que, H., Xie, Y., Holland, P.W.H., Paps, J., Zhu, Y., Wu, F., Chen, Y., Wang, Jiafeng, Peng, C., Meng, J., Yang, L., Liu, J., Wen, B., Zhang, N., Huang, Z., Zhu, Q., Feng, Y., Mount, A., Hedgecock, D., Xu, Z., Liu, Y., Domazet-Lošo, T., Du, Y., Sun, X., Zhang, Shoudu, Liu, B., Cheng, P., Jiang, X., Li, J., Fan, D., Wang, W., Fu, W., Wang, T., Wang, B., Zhang, J., Peng, Z., Li, Yingxiang, Li, Na, Wang, Jinpeng, Chen, M., He, Y., Tan, F., Song, X., Zheng, Q., Huang, R., Yang, Hailong, Du, X., Chen, L., Yang, M., Gaffney, P.M., Wang, S., Luo, L., She, Z., Ming, Y., Huang, W., Zhang, Shu, Huang, B., Zhang, Y., Qu, T., Ni, P., Miao, G., Wang, Junyi, Wang, Q., Steinberg, C.E.W., Wang, H., Li, Ning, Qian, L., Zhang, Guojie, Li, Yingrui, Yang, Huanming, Liu, X., Wang, Jian, Yin, Y., Wang, Jun, 2012. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature* 490, 49–54. <https://doi.org/10.1038/nature11413>
- Zhang, H., Zhang, S., Chen, Y., Luo, W., Huang, Y., Tao, D., Zhan, B., Liu, X., 2020. Non-destructive determination of fat and moisture contents in Salmon (*Salmo salar*) fillets using near-infrared hyperspectral imaging coupled with spectral and textural features. *Journal of Food Composition and Analysis* 92, 103567. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103567>
- Zhang, J., Li, Q., Wang, Q., Cong, R., Ge, J., Kong, L., 2018. The impact of successive mass selection on population genetic structure in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) revealed by microsatellite markers. *Aquacult Int* 26, 113–125. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0196-0>
- Zhang, T., Qiu, L., Sun, Z., Wang, L., Zhou, Z., Liu, R., Yue, F., Sun, R., Song, L., 2014. The specifically enhanced cellular immune responses in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) against secondary challenge with *Vibrio splendidus*. *Developmental & Comparative Immunology* 45, 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.02.015>
- Zhao, L., Li, Yangping, Li, Yajuan, Yu, J., Liao, H., Wang, S., Lv, J., Liang, J., Huang, X., Bao, Z., 2017. A Genome-Wide Association Study Identifies the Genomic Region Associated with Shell Color in Yesso Scallop, *Patinopecten yessoensis*. *Mar Biotechnol* 19, 301–309. <https://doi.org/10.1007/s10126-017-9751-y>
- Zhao, S., Zhang, S., Liu, J., Wang, H., Zhu, J., Li, D., Zhao, R., 2021. Application of machine learning in intelligent fish aquaculture: A review. *Aquaculture* 540, 736724. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736724>
- Zhong, X., Li, Q., Kong, L., Yu, H., 2017. Estimates of Linkage Disequilibrium and Effective Population Size in Wild and Selected Populations of the Pacific Oyster Using Single-nucleotide Polymorphism Markers. *Journal of the World Aquaculture Society* 48, 791–801. <https://doi.org/10.1111/jwas.12393>
- Zuykov, M., Pelletier, E., Harper, D.A.T., 2013. Bivalve mollusks in metal pollution studies: From bioaccumulation to biomonitoring. *Chemosphere* 93, 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.001>

ANNEXES

| | |
|---|-----|
| Annexe 1: Procédure d'analyse d'image automatisé pour la forme et la couleur des valves chez l'huître creuse <i>crassostrea gigas</i> | 212 |
| Annexe 2: Carte de densité des 12 274 snps valides de la population expérimentale sur chaque chromosome. | 213 |
| Annexe 3: Présentation de la méthode de prédiction du poids de chaire par irm et estimation des paramètres génétiques. Poster présenté à l'isga xiv (2022)..... | 214 |
| Annexe 4: Matériels complémentaires chapitre 2, article 1 | 215 |
| Annexe 5: Tableau présentant les résultats de mortalité (%) des familles testés au stade naissain par balnéation. | 218 |
| Annexe 6: Matériels complémentaires chapitre 3, article 2 | 219 |

Annexe 1: Procédure d'analyse d'image automatisé pour la forme et la couleur des valves chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*

AN IMAGE ANALYSIS PIPELINE FOR MOLLUSCS SHELLS PHENOTYPING: DEVELOPMENT AND VALIDATION ON THE PACIFIC OYSTER *Crassostrea gigas*

A. Jourdan^{a,c}, J. Bugeon^b, J.-B. Lamy^c, F. Enez^a, L. Degremont^c, P. Boudry^d, P. Haffray^a, F. Chenier^e, E. Vétois^f, R. Morvezen^{*,a}

^a SYSAAF (French Poultry and Aquaculture Breeders Technical Centre), 35042 Rennes, France
^b INRAE LGP UR1037 (Laboratory of Fish Physiology and Genomics) 35000 Rennes, France
^c Ifremer, LGPMM (Marine Molluscs Genetic and Pathology Laboratory), 17390 La Tremblade, France
^d Ifremer, Department of Biological Resources and Environment, 29280 Plouzané, France
^e Vendée Naissain, 85230 Bouin, France
^f SATMAR, 50760, Gatteville-le-Phare, France



Introduction

Image analysis has proven to be a powerful phenotyping tool in breeding programs. It allows an objective and numerical measures of color and shape, improving the accuracy of phenotyping these traits when compared to human-based evaluation. In aquaculture, several methods have been used to describe animal shape. Procruste based methods used morphological points of interest on the animal whereas Fourier analysis use a whole contour-based analysis. More recently, machine learning algorithms have been implemented. For shellfish, defining easily identifiable points of interests for Procruste approach is not obvious. Elliptic Fourier transformation has been shown to be more suitable in organism with shapes resembling shellfish, such as seeds or tree leaves (Costa et al. 2011). In our poster, we describe the development of an analysis pipeline using standardized photography, automated image analysis for colorimetric evaluation, contour-tracing and elliptic Fourier analysis for multivariate approach to shape.



Material and methods

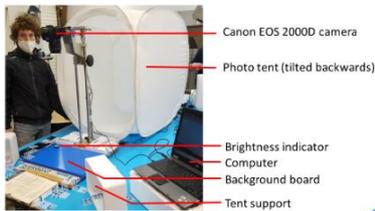
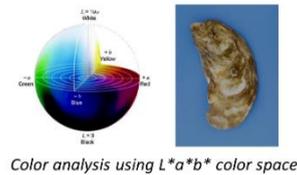


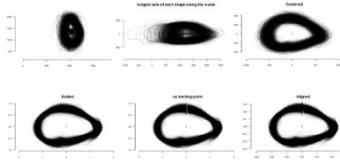
Image capture setup



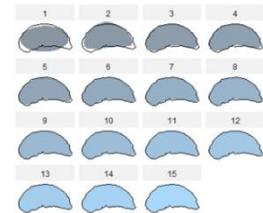
Example of an image taken using the above setup



- 1249 photos of 2.5 year-old shucked Pacific oyster *Crassostrea gigas*
- Semi-automatic macro developed using Fiji
- Luminosity and white balance were standardized using an internal control
- Automatic detection of upper shell contour
- Fourier analysis using R package Momocs



Contour standardization for all pictures : all oyster were aligned, centered, scaled and a arbitrary starting point was defined and aligned



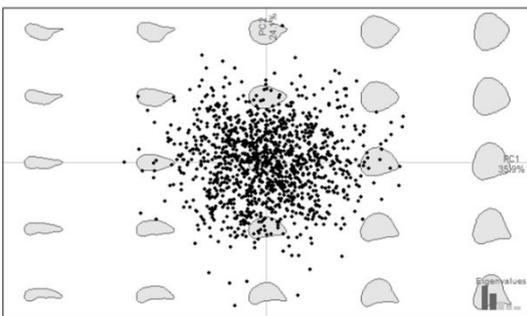
Shape analysis using elliptic Fourier transformation with different number of harmonics

Results and Discussion

Shell shape

| | | | | |
|--|-----|-----|-----|-------|
| Proportion of shape variance explained | 90% | 95% | 99% | 99.9% |
| Number of harmonics | 5 | 6 | 12 | 25 |

We limited the number of harmonics to 6, as adding more help only to described unwanted details like the knife scar made during oysters shucking.



The PCA of Fourier descriptors revealed that the two first axes explained 35.9% and 24.1% of variance respectively. Axis one seemed to be driven by the overall roundness of shell, while axis 2 was mainly driven by shell symmetry.

Shell color

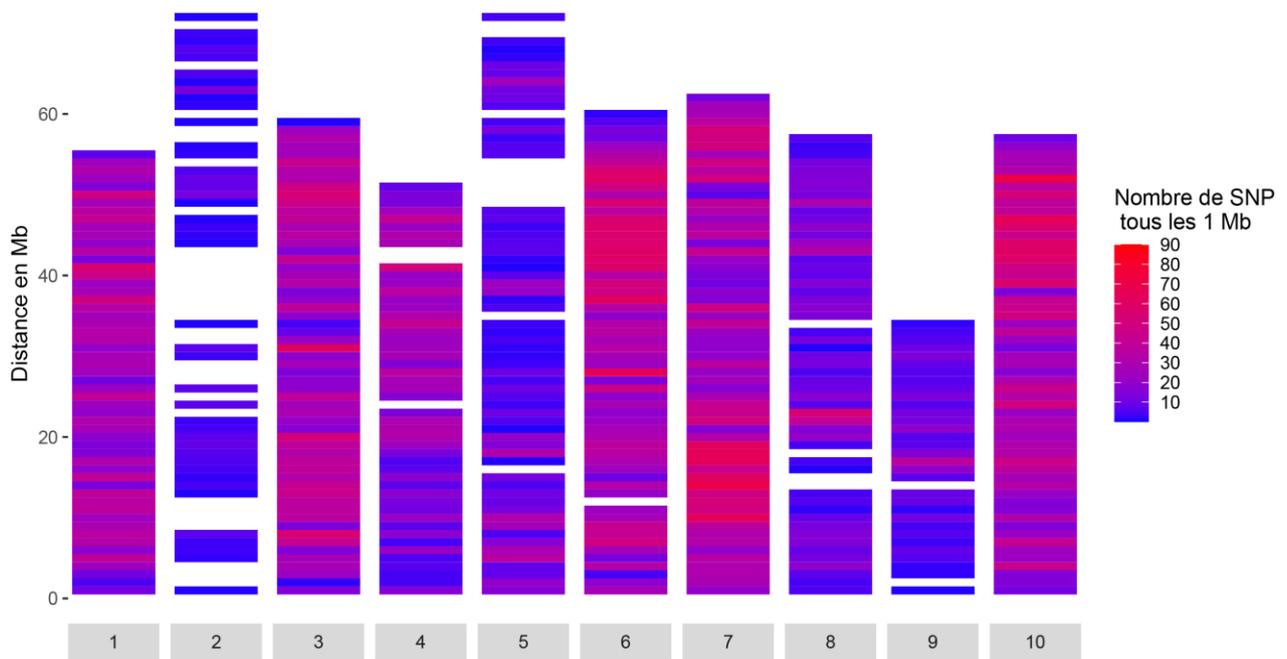


Two most contrasted oyster shells for lightness (L parameter)

Color in le L*a*b* color space was moderately variable, with coefficient of variation varying from 13 to 53%. However, the analyzed oysters were not representative of all possible color variation that can be found in the Pacific oyster: they were white to slightly orange. We expect this methodology to perform accurately even with different colored oysters such as black or striped oysters, and more testing is currently being done.

Take-home messages

- The pipeline is useful for objective quantification of shape and color variance in any given population or species of mollusks.
- Usable for a wide range of application: breeding and genetic improvement, rearing methods impact evaluation, or grow-out site characterization.
- The pipeline was developed using only open-source software for better transferability.



Annexe 2: Carte de densité des 12 274 SNPs valides de la population expérimentale sur chaque chromosome.

Annexe 3: Présentation de la méthode de prédiction du poids de chair par IRM et estimation des paramètres génétiques. Poster présenté à l'ISGA XIV (2022).



MRI for the prediction of meat yield in breeding programs of the cupped oyster *Crassostrea gigas*

Romain Morvezen¹, Guylaine Collewet², Antoine Jourdan², Florian Enez², Frederic Chenier³, Pierrick Haffray¹, Stephane Quéllec²

¹ SYSAAF, Station INRAE-LPGP, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, France
² INRAe, UR OPAALE, 17 Av. de Cucillé CS 64427, 35000 Rennes, France
³ France Naissain, Polder des champs, 85230 Bouin, France

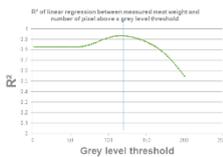


Aim of the study

- ❖ Improve meat yield →
- ❖ Measuring meat yield is **lethal**, so we look for **non-lethal predictions** of meat yield that can be **measured live candidates**

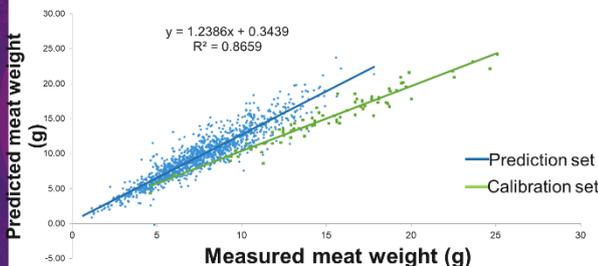
✓ **Objective : to evaluate MRI to improve or to automate prediction of meat yield on live candidates**

Calibration method



- ❖ To eliminate noise in MRI images, correlation between measured meat weight and number of pixel above a grey-level threshold was calculated
- ❖ Grey-level threshold with best R² was kept for prediction

Prediction results



- ❖ Using the threshold established with calibration data gave a systematic overestimation of weigh weight in the prediction set
- ❖ R² was still good
- ❖ Calibration set does not capture all variance observed in prediction set -> slightly bigger and older animals



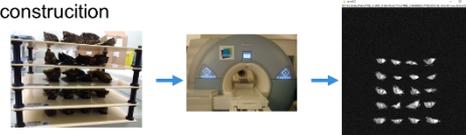
Take home messages



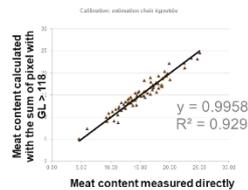
- MRI is a good tool to predict meat content in oysters
- Calibration must be done carefully, preferably on a subset of the animals to be measured
- Effort must be made for higher throughput and ease of use of the technique

Materials and methods

- ❖ 70 oysters imaged with MRI and measured for meat weight for calibration
- ❖ 1224 oysters from 133 parents of a French breeding program were used a validation set (imaged with MRI and measured for prediction validation. All were genotyped for pedigree reconstruction



Calibration results



- ❖ Predicted and measured meat content were very highly correlated
- ❖ Slope was close to 1 and intercept at 0

Genetic parameters

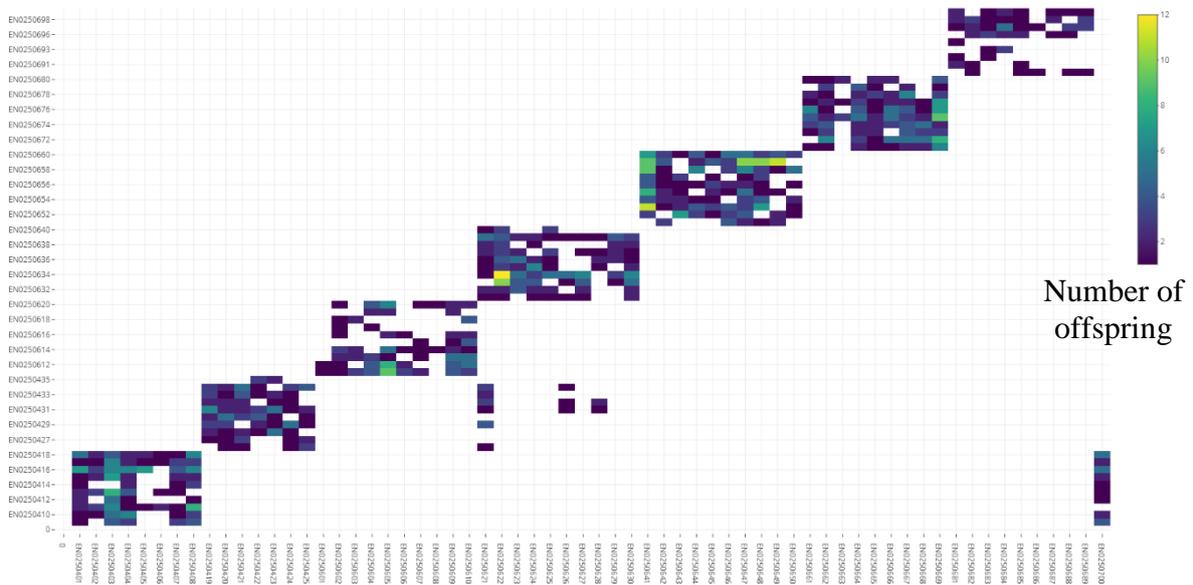
- ❖ After genotyping with the Axiom oyster array, ~12k good quality SNPs were obtained for all genotyped animals
- ❖ 97% of offspring from prediction set were correctly assigned to the 133 parents

| | Measured meat yield | Predicted meat yield |
|----------------------|---------------------|----------------------|
| Measured meat yield | 0.22(±0.04) | 0.94 (±0.04) |
| Predicted meat yield | | 0.22(±0.04) |

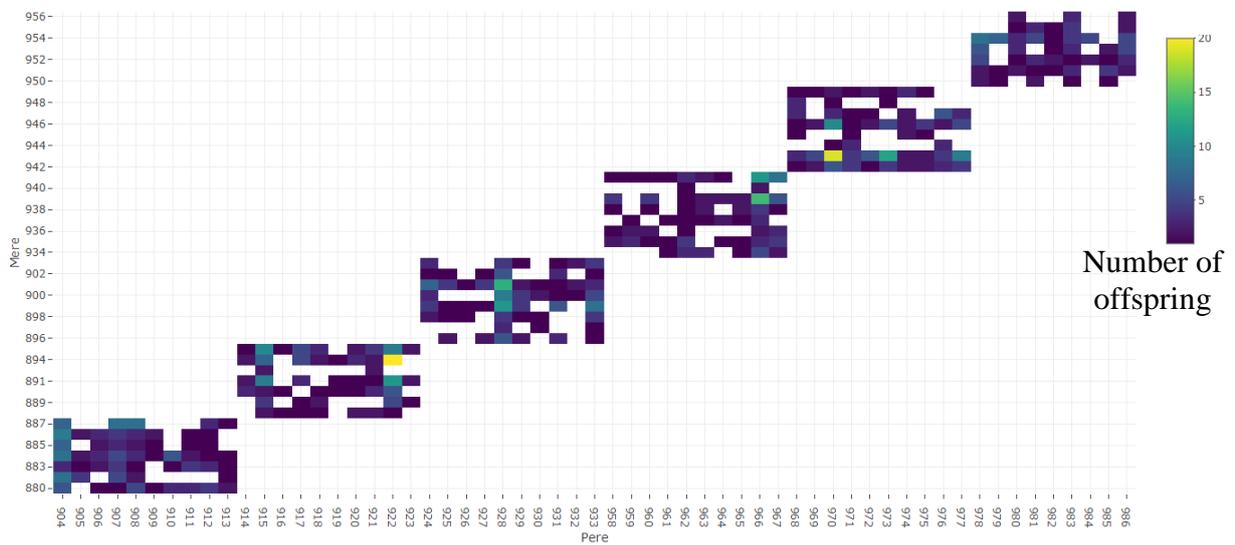
Heritabilities (diagonal) and genetic correlation (above diagonal)

- ❖ Comparable heritabilities
- ❖ Very strong genetic correlation
- ❖ Despite overestimation of the phenotype, the genetic rankings of individuals are accurate

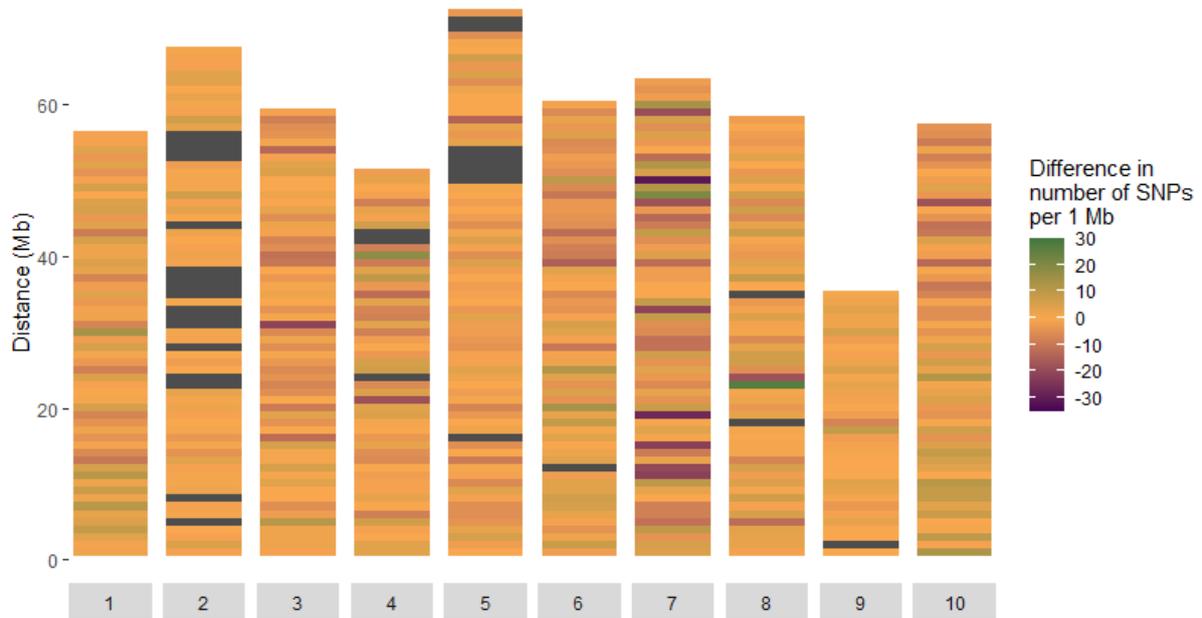
Annexe 4: Matériels complémentaires chapitre 2, Article 1



Supplementary Figure 1. Breeding design of population 1 with sires on the x-axis and dams on the y-axis, showing number of individuals in each full-sib family assessed by parentage assignment.



Supplementary Figure 2. Breeding design of population 2 with sires on the x-axis and dams on the y-axis, showing number of individuals in each full-sib family assessed by parentage assignment.



Supplementary Figure 3. Density map of the difference in the numbers of SNPs per megabase between population 1 (redish) and population 2 (greenish) for each linkage group. Megabases with a dark grey colour did not include any SNPs in both populations.

Supplementary Table 1. Number of SNPs after each filtration step in population 1 and population 2. CR: Call rate, MAF: Minor allele frequency, H.W. p-value: Hardy-Weinberg p-value, FLD: Fisher's linear discriminant.

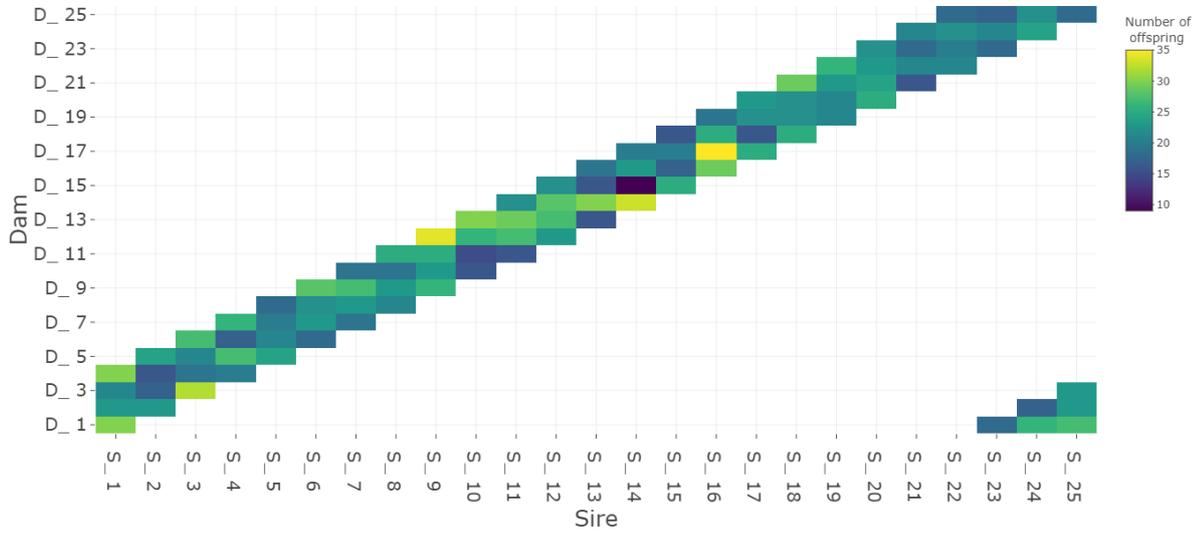
| Filters | SNP number in P1 | SNP number in P2 |
|-------------------------|------------------|------------------|
| None | 40 625 | 40 625 |
| PolyHighRes/ NoMinorHom | 24 002 | 27 252 |
| CR (98.5) | 21 012 | 25 057 |
| MAF (>0.01) | 19 933 | 23 519 |
| H.W. p-value (>0.0001) | 17 051 | 16 237 |
| FLD (5.3) | 14 469 | 14 452 |

Supplementary Table 2. Accuracy of EBVs in population 1 (P1) and population 2 (P2) estimated with BLUP and GBLUP models.

| Traits | | P1 | | P2 | |
|---------------------------|-------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | BLUP | GBLUP | BLUP | GBLUP |
| Height | (H, mm) | 0.29 (0.18) | 0.40 (0.19) | 0.51 (0.20) | 0.65 (0.21) |
| Width | (W, mm) | 0.23 (0.18) | 0.37 (0.18) | 0.68 (0.15) | 0.78 (0.17) |
| Length | (L, mm) | 0.35 (0.13) | 0.43 (0.15) | 0.54 (0.17) | 0.68 (0.13) |
| Wet Flesh Weight | (FW, g) | 0.39 (0.14) | 0.56 (0.14) | 0.59 (0.12) | 0.75 (0.14) |
| Lower Valve Weight | (LVW, g) | 0.39 (0.13) | 0.55 (0.14) | 0.60 (0.16) | 0.66 (0.18) |
| Upper Valve Weight | (UVW, g) | 0.40 (0.15) | 0.53 (0.15) | 0.60 (0.11) | 0.73 (0.11) |
| Total Weight | (TW, g) | 0.38 (0.14) | 0.55 (0.14) | 0.60 (0.16) | 0.70 (0.19) |
| Lower Valve Area | (LVA, mm ²) | 0.47 (0.13) | 0.63 (0.14) | 0.62 (0.14) | 0.72 (0.14) |
| Upper Valve Area | (UVA, mm ²) | 0.46 (0.13) | 0.63 (0.13) | 0.57 (0.16) | 0.70 (0.15) |
| Flesh Weight Adjusted | (FWA) | 0.42 (0.15) | 0.68 (0.13) | 0.38 (0.14) | 0.66 (0.12) |
| Mean Upper Valve L* Value | (LV) | 0.55 (0.12) | 0.58 (0.15) | 0.52 (0.10) | 0.63 (0.09) |
| Mean Upper Valve a* Value | (AV) | 0.56 (0.19) | 0.39 (0.34) | 0.52 (0.24) | 0.63 (0.22) |
| Mean Upper Valve b* Value | (BV) | 0.52 (0.11) | 0.63 (0.13) | 0.56 (0.08) | 0.71 (0.08) |
| Mean Darkness Intensity | (MDI) | 0.52 (0.34) | 0.45 (0.28) | 0.43 (0.12) | 0.63 (0.10) |
| Percent of Dark Area | (PDA, %) | 0.51 (0.14) | 0.58 (0.18) | 0.54 (0.10) | 0.68 (0.07) |

Supplementary Table 3. Location of the SNP site from the bi-species Axiom Affymetrix 57K oyster array, Axiom_Oyster02, on the latest assembly (cgigas_uk_roslin_v1, GenBank accession number: GCA_902806645.1).

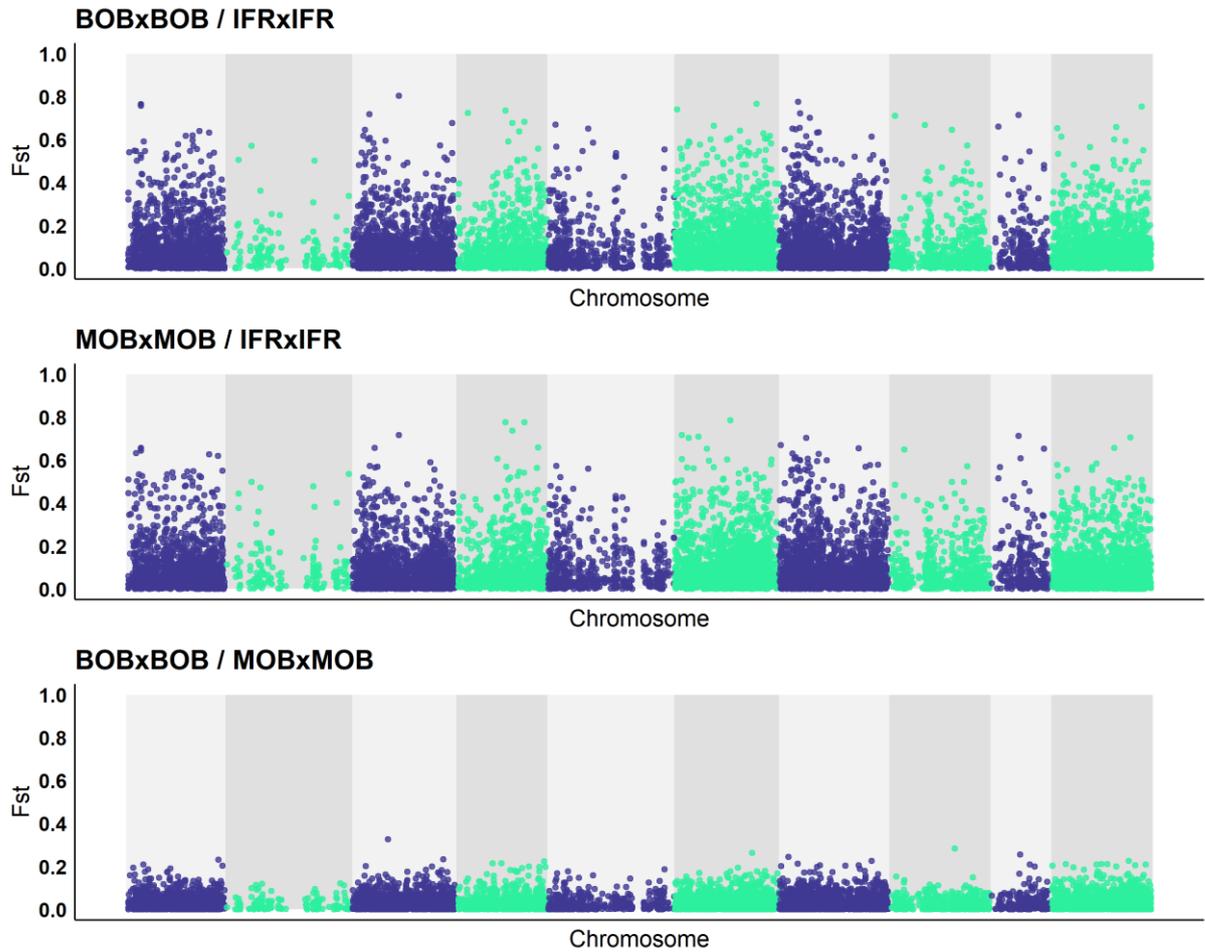
Annexe 6: Matériels complémentaires chapitre 3, Article 2



Supplementary Figure 1: Breeding design with the number of offspring.

Supplementary table 1: Number of families according to the origin of breeding dams and sires.

| Sire origin | Dam origin | Number of families |
|-------------|------------|--------------------|
| BOB | BOB | 20 |
| MOB | MOB | 20 |
| IFR | IFR | 5 |
| BOB | MOB | 15 |
| MOB | BOB | 10 |
| BOB | IFR | 5 |
| IFR | BOB | 10 |
| MOB | IFR | 10 |
| IFR | MOB | 5 |



Supplementary Figure 2 : Weir and Cockerham pairwise F_{st} (Fixation index) (Weir and Cockerham, 1984) calculated using PLINK v1.9 (Chang et al., 2015). For all SNPs, F_{st} was estimated between three populations composed of all offspring of parents from the same origin. Genome wide F_{st} values calculated between BOBxBOB and IFRxIFR offsprings, and between MOBxMOB and IFRxIFR offsprings were similar (0.11). Differentiation was much lower (0.03) between BOBxBOB and MOBxMOB.

Supplementary table 2: OsHV-1 and *V. aestuarianus* quantification of each sample in copies/ng of DNA for tissue and copies/ μ L for sea water. ND: Not Detected

| Day post infection | Condition | Sample | <i>V. aestuarianus</i> quantification | OsHV-1 quantification |
|--------------------|-------------|--------|--|--------------------------|
| 2 | Coinfection | 31-OV | ND | 1.20E+05 |
| 2 | Coinfection | 32-OV | 7.15E+03 | 1.27E+05 |
| 2 | Coinfection | 33-OV | 7.19E+03 | 2.06E+05 |
| 2 | Coinfection | 34-OV | 2.21E+04 | 8.50E+05 |
| 3 | Coinfection | 37-OV | 3.20E+03 | 1.59E+05 |
| 3 | Coinfection | 38-OV | 2.89E+03 | 1.65E+05 |
| 3 | Coinfection | 39-OV | 3.09E+03 | 4.03E+05 |
| 3 | Coinfection | 41-OV | ND | 4.27E+05 |
| 3 | Coinfection | 42-OV | ND | 5.45E+04 |
| 4 | Coinfection | 45-OV | 2.13E+06 | 2.07E+05 |
| 5 | Coinfection | 46-OV | 1.84E+06 | 4.68E+04 |
| 5 | Coinfection | 47-OV | 7.83E+03 | 3.47E+05 |
| 5 | Coinfection | 49-OV | ND | 2.86E+05 |
| 5 | Coinfection | 50-OV | 2.30E+03 | 3.91E+05 |
| 5 | Coinfection | 51-OV | ND | 2.38E+05 |
| 5 | Coinfection | 53-OV | 1.64E+06 | 4.42E+03 |
| 5 | Coinfection | 54-OV | 4.60E+03 | 1.99E+05 |
| 7 | Coinfection | 55-OV | 2.81E+06 | 3.34E+01 |
| 7 | Coinfection | 56-OV | 4.88E+06 | 4.96E+03 |
| 9 | Coinfection | 57-OV | 4.47E+06 | 7.23E+00 |
| 9 | Coinfection | 58-OV | 6.17E+06 | 2.98E+02 |
| 10 | Coinfection | 60-OV | 2.20E+04 | 1.27E+04 |
| 10 | Coinfection | 61-OV | 5.74E+03 | 6.86E+04 |
| 10 | Coinfection | 62-OV | 1.72E+06 | 1.45E+02 |
| 10 | Coinfection | 63-OV | 9.02E+04 | 8.29E+03 |
| 10 | Coinfection | 65-OV | 1.46E+06 | 1.20E+03 |
| 10 | Coinfection | 67-OV | 2.94E+03 | 1.76E+04 |
| 16 | Coinfection | 69-OV | 3.03E+06 | 4.40E+02 |
| 16 | Coinfection | 70-OV | 3.34E+06 | 8.23E+02 |
| 16 | Coinfection | 71-OV | 3.29E+06 | 1.37E+01 |
| 32 | Coinfection | 73-OV | 3.68E+04 | 7.76E+00 |
| 32 | Coinfection | 74-OV | 5.92E+03 | 6.30E+02 |
| 32 | Coinfection | 75-OV | 2.35E+04 | 1.13E+00 |
| 32 | Coinfection | 76-OV | 2.10E+04 | 9.32E-01 |
| 32 | Coinfection | 77-OV | 1.46E+04 | 2.13E+01 |
| 37 | Coinfection | 83-OV | 1.61E+04 | 1.01E+00 |
| 37 | Coinfection | 84-OV | 4.27E+04 | 1.39E-01 |
| 37 | Coinfection | 85-OV | 2.48E+04 | 2.16E-01 |
| 37 | Coinfection | 86-OV | 1.81E+04 | 6.58E-01 |
| 37 | Coinfection | 87-OV | 2.14E+04 | ND |
| 41 | Coinfection | 94-OV | 2.08E+04 | 1.29E+00 |
| 41 | Coinfection | 95-OV | 7.32E+04 | 3.74E-02 |
| 41 | Coinfection | 96-OV | 7.91E+03 | 5.21E+00 |
| 41 | Coinfection | 97-OV | 1.24E+04 | ND |
| 41 | Coinfection | 98-OV | 1.57E+04 | 2.62E+00 |
| 51 | Control | C1 | 1.92E+01 | ND |
| 51 | Control | C2 | ND | 3.81E-02 |
| 51 | Control | C3 | ND | ND |
| 51 | Control | C4 | 2.49E+00 | ND |
| 51 | Control | C5 | ND | ND |
| 51 | Control | C6 | ND | ND |
| 51 | Control | C7 | 5.98E+00 | ND |
| 51 | Control | C8 | ND | ND |
| 51 | Control | C9 | ND | ND |
| 51 | Control | C10 | 3.20E+00 | ND |
| 51 | Control | C11 | ND | ND |

| | | | | |
|----|---------|------|----------|----------|
| 51 | Control | C12 | ND | ND |
| 51 | Control | C13 | ND | ND |
| 51 | Control | C14 | 2.78E+00 | ND |
| 51 | Control | C15 | ND | ND |
| 51 | Control | C16 | ND | ND |
| 51 | Control | C17 | ND | ND |
| 51 | Control | C18 | ND | ND |
| 51 | Control | C19 | ND | ND |
| 51 | Control | C20 | ND | ND |
| 2 | OsHV1 | 01-O | 3.56E+03 | 2.64E+04 |
| 2 | OsHV1 | 04-O | ND | 2.41E+05 |
| 2 | OsHV1 | 07-O | ND | 2.34E+05 |
| 3 | OsHV1 | 09-O | ND | 3.20E+05 |
| 3 | OsHV1 | 10-O | ND | 3.54E+05 |
| 3 | OsHV1 | 11-O | ND | 4.02E+05 |
| 3 | OsHV1 | 12-O | 3.34E+03 | 5.01E+04 |
| 3 | OsHV1 | 13-O | ND | 1.39E+05 |
| 3 | OsHV1 | 14-O | ND | 3.99E+05 |
| 5 | OsHV1 | 15-O | ND | 2.18E+04 |
| 5 | OsHV1 | 17-O | ND | 7.57E+04 |
| 5 | OsHV1 | 18-O | ND | 1.93E+04 |
| 5 | OsHV1 | 19-O | ND | 8.22E+03 |
| 5 | OsHV1 | 20-O | ND | 1.75E+05 |
| 5 | OsHV1 | 21-O | 3.11E+03 | 4.47E+05 |
| 5 | OsHV1 | 24-O | ND | 7.55E+04 |
| 7 | OsHV1 | 25-O | ND | 5.67E+02 |
| 9 | OsHV1 | 27-O | ND | 1.19E+03 |
| 9 | OsHV1 | 28-O | ND | 6.74E+03 |
| 10 | OsHV1 | 29-O | ND | 5.66E+03 |
| 10 | OsHV1 | 30-O | ND | 2.92E+03 |
| 10 | OsHV1 | 31-O | ND | 1.44E+03 |
| 10 | OsHV1 | 33-O | ND | 3.91E+03 |
| 10 | OsHV1 | 35-O | ND | 2.05E+03 |
| 10 | OsHV1 | 36-O | ND | 2.57E+04 |
| 10 | OsHV1 | 37-O | ND | 1.46E+03 |
| 16 | OsHV1 | 38-O | ND | 1.71E+03 |
| 16 | OsHV1 | 39-O | 3.16E+03 | 1.71E+02 |
| 16 | OsHV1 | 40-O | ND | 8.28E+02 |
| 16 | OsHV1 | 41-O | ND | 2.37E+02 |
| 32 | OsHV1 | 42-O | 3.18E+01 | 4.88E+02 |
| 32 | OsHV1 | 43-O | 7.61E+01 | 3.19E+02 |
| 32 | OsHV1 | 44-O | 3.83E+00 | 1.48E+01 |
| 32 | OsHV1 | 45-O | 8.71E+00 | 9.18E+01 |
| 32 | OsHV1 | 46-O | 3.93E+00 | 2.96E+02 |
| 4 | Vibrio | 61-V | 2.60E+06 | 9.13E+00 |
| 5 | Vibrio | 62-V | 1.34E+07 | 2.18E+00 |
| 5 | Vibrio | 63-V | 3.27E+06 | 2.22E-01 |
| 5 | Vibrio | 64-V | 5.23E+06 | 1.87E+00 |
| 5 | Vibrio | 65-V | 8.23E+06 | 3.74E-02 |
| 5 | Vibrio | 66-V | 3.60E+06 | 1.39E+00 |
| 5 | Vibrio | 67-V | 4.95E+06 | 5.02E-02 |
| 5 | Vibrio | 68-V | 2.01E+06 | 1.64E+00 |
| 5 | Vibrio | 69-V | 7.94E+05 | 5.28E-02 |
| 5 | Vibrio | 70-V | 5.38E+06 | ND |
| 5 | Vibrio | 71-V | 5.19E+06 | 2.65E+00 |
| 6 | Vibrio | 72-V | 1.13E+07 | 2.94E+00 |
| 6 | Vibrio | 73-V | 5.04E+06 | 1.67E+02 |
| 7 | Vibrio | 74-V | 5.47E+06 | 4.32E-01 |
| 7 | Vibrio | 75-V | 3.66E+06 | 4.06E-01 |
| 9 | Vibrio | 76-V | 3.31E+07 | 2.48E-01 |
| 9 | Vibrio | 77-V | 1.44E+07 | 4.14E-01 |
| 10 | Vibrio | 78-V | 2.30E+07 | 8.32E-01 |
| 10 | Vibrio | 79-V | 3.37E+07 | 1.07E+00 |

| | | | | |
|----|-------------------|--------------|----------|----------|
| 10 | Vibrio | 81-V | 3.38E+06 | 7.28E-01 |
| 32 | Vibrio | 82-V | 2.30E+04 | ND |
| 32 | Vibrio | 83-V | 4.77E+04 | 3.47E-02 |
| 32 | Vibrio | 84-V | 1.23E+04 | ND |
| 32 | Vibrio | 85-V | 2.17E+04 | ND |
| 32 | Vibrio | 86-V | 1.27E+04 | ND |
| 37 | Vibrio | 92-V | 3.23E+04 | 2.00E-01 |
| 37 | Vibrio | 93-V | 2.28E+04 | ND |
| 37 | Vibrio | 94-V | 1.43E+04 | 3.06E-01 |
| 37 | Vibrio | 95-V | 1.34E+05 | ND |
| 37 | Vibrio | 96-V | 2.15E+04 | ND |
| 41 | Vibrio | 102-V | 3.91E+04 | 6.76E-02 |
| 41 | Vibrio | 103-V | 1.25E+04 | ND |
| 41 | Vibrio | 104-V | 5.11E+04 | ND |
| 41 | Vibrio | 105-V | 2.22E+04 | 3.08E-02 |
| 41 | Vibrio | 106-V | 2.65E+04 | ND |
| 2 | Water_Coinfection | Water-J2-OV | 1.10E+03 | 1.18E+04 |
| 3 | Water_Coinfection | Water-J3-OV | 5.89E+01 | 8.27E+03 |
| 4 | Water_Coinfection | Water-J4-OV | 5.06E+01 | 4.96E+03 |
| 5 | Water_Coinfection | Water-J5-OV | 1.85E+02 | 2.60E+03 |
| 6 | Water_Coinfection | Water-J6-OV | 1.45E+02 | 2.11E+03 |
| 7 | Water_Coinfection | Water-J7-OV | 6.29E+01 | 1.32E+03 |
| 8 | Water_Coinfection | Water-J8-OV | 1.54E+01 | 3.90E+02 |
| 9 | Water_Coinfection | Water-J9-OV | 8.09E+01 | 1.28E+02 |
| 10 | Water_Coinfection | Water-J10-OV | 2.29E+01 | 1.97E+01 |
| 11 | Water_Coinfection | Water-J11-OV | 5.21E+01 | 1.80E+00 |
| 12 | Water_Coinfection | Water-J12-OV | 1.20E+02 | 2.00E+00 |
| 23 | Water_Coinfection | Water-J23-OV | 1.79E+03 | 5.03E+03 |
| 25 | Water_Coinfection | Water-J25-OV | 4.00E+02 | 1.35E+02 |
| 27 | Water_Coinfection | Water-J27-OV | 9.35E+02 | 8.91E+00 |
| 30 | Water_Coinfection | Water-J30-OV | 1.92E+02 | 8.30E-01 |
| 32 | Water_Coinfection | Water-J32-OV | 5.77E+01 | 3.72E+00 |
| 34 | Water_Coinfection | Water-J34-OV | 2.02E+02 | 1.06E+00 |
| 37 | Water_Coinfection | Water-J37-OV | 2.24E+03 | 1.73E+01 |
| 39 | Water_Coinfection | Water-J39-OV | 4.52E+02 | 1.00E+00 |
| 41 | Water_Coinfection | Water-J41-OV | 1.12E+03 | 1.06E+00 |
| 3 | Water_Control | Water-J3-C | 7.57E+00 | 1.56E+01 |
| 6 | Water_Control | Water-J6-C | 3.73E+01 | 4.20E+01 |
| 9 | Water_Control | Water-J9-C | 7.48E+00 | 1.92E+00 |
| 12 | Water_Control | Water-J12-C | 2.39E+01 | 1.63E+00 |
| 15 | Water_Control | Water-J15-C | 7.38E+00 | 2.02E+00 |
| 18 | Water_Control | Water-J18-C | 1.35E+01 | ND |
| 23 | Water_Control | Water-J23-C | 1.30E+00 | 2.40E+00 |
| 27 | Water_Control | Water-J27-C | 5.66E+01 | 6.82E-01 |
| 30 | Water_Control | Water-J30-C | 8.95E+01 | 5.55E+00 |
| 34 | Water_Control | Water-J34-C | 1.28E+01 | 3.49E+00 |
| 37 | Water_Control | Water-J37-C | 1.95E+01 | 1.42E+00 |
| 41 | Water_Control | Water-J41-C | 2.74E+02 | ND |
| 2 | Water_OsHV1 | Water-J2-O | 5.56E+00 | 8.23E+04 |
| 3 | Water_OsHV1 | Water-J3-O | 9.89E+00 | 4.33E+04 |
| 4 | Water_OsHV1 | Water-J4-O | 3.00E+00 | 3.89E+04 |
| 5 | Water_OsHV1 | Water-J5-O | 8.72E+01 | 1.29E+04 |
| 6 | Water_OsHV1 | Water-J6-O | 1.30E+01 | 4.40E+03 |
| 7 | Water_OsHV1 | Water-J7-O | 2.80E+01 | 1.20E+03 |
| 8 | Water_OsHV1 | Water-J8-O | 4.68E+01 | 7.07E+02 |
| 9 | Water_OsHV1 | Water-J9-O | 4.60E+00 | 1.38E+02 |
| 10 | Water_OsHV1 | Water-J10-O | 1.30E+01 | 4.67E+01 |
| 23 | Water_OsHV1 | Water-J23-O | 3.62E+01 | 2.53E+04 |
| 25 | Water_OsHV1 | Water-J25-O | 1.56E+01 | 1.37E+02 |
| 27 | Water_OsHV1 | Water-J27-O | 9.16E+00 | 8.51E+00 |
| 30 | Water_OsHV1 | Water-J30-O | 9.24E+00 | 8.06E+00 |
| 32 | Water_OsHV1 | Water-J32-O | 2.04E+01 | 1.29E+00 |
| 3 | Water_Vibrio | Water-J3-V | 4.43E+01 | 5.83E+01 |

| | | | | |
|----|--------------|-------------|----------|----------|
| 4 | Water_Vibrio | Water-J4-V | 1.01E+01 | 1.68E+01 |
| 5 | Water_Vibrio | Water-J5-V | ND | 2.29E+00 |
| 6 | Water_Vibrio | Water-J6-V | ND | 9.32E-01 |
| 7 | Water_Vibrio | Water-J7-V | ND | ND |
| 8 | Water_Vibrio | Water-J8-V | 5.04E+01 | 7.66E-01 |
| 9 | Water_Vibrio | Water-J9-V | 4.05E+01 | 4.89E+00 |
| 10 | Water_Vibrio | Water-J10-V | 2.89E+02 | 8.25E-01 |
| 11 | Water_Vibrio | Water-J11-V | 2.36E+02 | ND |
| 12 | Water_Vibrio | Water-J12-V | 2.56E+02 | 2.18E+00 |
| 13 | Water_Vibrio | Water-J13-V | 1.44E+02 | ND |
| 14 | Water_Vibrio | Water-J14-V | 2.52E+01 | ND |
| 15 | Water_Vibrio | Water-J15-V | 4.58E+00 | ND |
| 16 | Water_Vibrio | Water-J16-V | 4.24E+01 | 1.48E+00 |
| 23 | Water_Vibrio | Water-J23-V | 1.53E+03 | 5.49E-01 |
| 25 | Water_Vibrio | Water-J25-V | 3.22E+02 | ND |
| 27 | Water_Vibrio | Water-J27-V | 9.96E+01 | ND |
| 30 | Water_Vibrio | Water-J30-V | 9.41E+02 | ND |
| 32 | Water_Vibrio | Water-J32-V | 1.25E+02 | 4.08E+00 |
| 34 | Water_Vibrio | Water-J34-V | 6.98E+02 | 7.04E-01 |
| 37 | Water_Vibrio | Water-J37-V | 2.85E+03 | 1.01E+00 |
| 39 | Water_Vibrio | Water-J39-V | 8.88E+02 | ND |
| 41 | Water_Vibrio | Water-J41-V | 2.42E+03 | ND |

Mise en place de la sélection génomique chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*

Résumé : (1700 caractères max.)

Suite à son introduction à la fin des années 1960, l'huître creuse du Pacifique (*Crassostrea gigas*) est rapidement devenue une des espèces majeures de la conchyliculture en France et en Europe. Le développement de la production de naissain en écloséries a notamment permis d'initier la triploïdisation et des programmes d'amélioration génétique, par la sélection massale ou familiale avec l'appui du SYSAAF. Les outils génomiques ouvrent aujourd'hui de nouvelles méthodes visant à optimiser cette amélioration par la sélection génomique (SG). Ainsi, une puce contenant 40K marqueurs SNP a été utilisée pour génotyper des huîtres issues de 3 populations permettant de retenir environ 12K SNP informatif dans chacune d'entre elles. Cela a permis d'étudier leur diversité, leur structure génétique, et d'estimer l'intérêt d'une sélection génomique pour différents caractères. Nous avons estimé les tailles efficaces de ces populations (de 59 à 107), le déséquilibre de liaison entre les marqueurs successifs ($r^2 \sim 0,10$), et les héritabilités de différents caractères (entre 0,04 et 0,69) : croissance, de rendement en chair, de couleur de la coquille, résistance à OsHV-1 et/ou à *Vibrio aestuarianus*. Selon nos estimations, la SG présente une efficacité supérieure de 6 à 60% par rapport à une sélection sur pedigree pour l'ensemble de ces caractères étudiés. Ces caractères sont en effet très polygéniques et seuls quelques QTL associés à la couleur et à la résistance aux maladies ont pu être identifiés. Des voies d'optimisation des programmes de sélection génomique de *C. gigas*, en cours dans les écloséries françaises adhérentes du SYSAAF, sont ainsi proposées.

Mots clés : conchyliculture, déséquilibre de liaison, GWAS, sélection génomique, croissance, couleur, résistance aux maladies, puce à SNP

Implementation of genomic selection in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*

Summary : (1700 caractères max.)

Following its introduction in the late 1960s, the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) quickly became a major species in shellfish farming in France and Europe. The development of hatchery production allowed for the initiation of triploidy induction and genetic improvement programs by mass or familial selection with the support of SYSAAF. Genomic tools now offer new methods to optimize this improvement through genomic selection (GS). In this study, a 40K SNP genotyping array was used to genotype oysters from three populations, resulting in the retention of approximately 12K informative SNPs in each population. This enabled the assessment of their diversity, genetic structure, and the potential of genomic selection for various traits. Effective population sizes (ranging from 59 to 107), linkage disequilibrium between successive markers ($r^2 \sim 0,10$), and heritabilities of different traits (ranging from 0.04 to 0.69) were estimated, including growth, flesh yield, shell color, resistance to OsHV-1 and/or *Vibrio aestuarianus*. According to our estimations, GS demonstrated a higher efficiency of 6 to 60% compared to pedigree-based selection for all studied traits. These traits are highly polygenic, with only a few identified QTL associated with color and disease resistance. Optimization strategies for ongoing genomic selection programs of *C. gigas* in French hatcheries affiliated with SYSAAF are proposed.

Keywords : shellfish farming, linkage disequilibrium, GWAS, genomic selection, growth, color, disease resistance, SNP array

| | | | | |
|---|---|--|---|---|
|  SYSAAF | Unité Adaptation Santé des Invertébrés Marins Ifremer | Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français (SYSAAF) |  |  |
|  | Avenue de Mus de Loup 17390 La Tremblade | Bâtiment 16A, Allée Henri Fabre, Campus de Beaulieu 35042 Rennes Cedex |  |  |