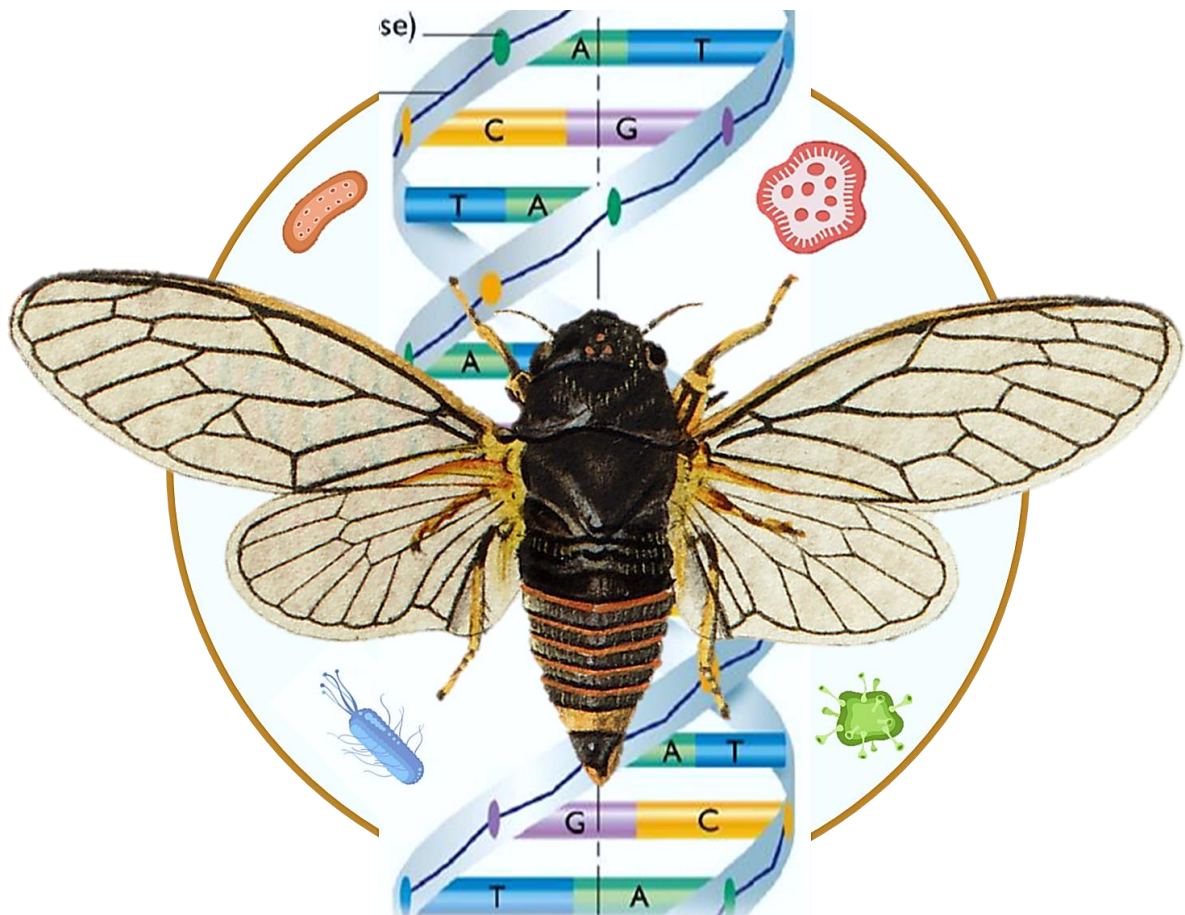


Sujets de mémoire BOE 2024-2025

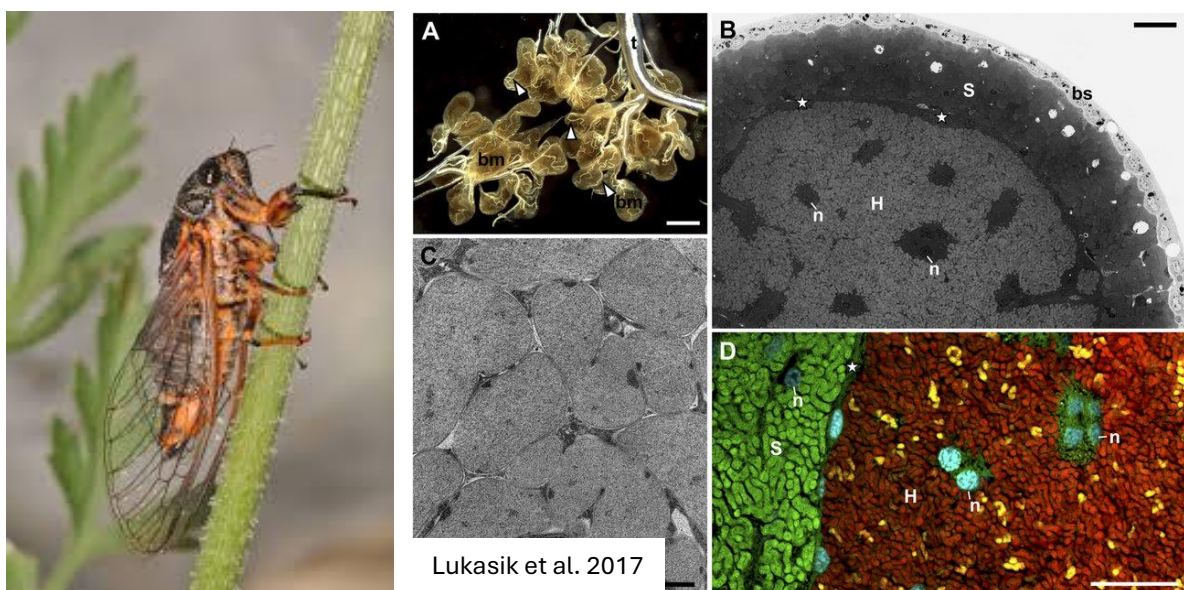
Prof. François Renoz (ELI, UCLouvain)

Laboratoire de Biologie Intégrative



Coévolution insecte-symbiotes : Caractérisation du système symbiotique nutritionnel de la petite cigale des montagnes (*Cicadetta montana*).

La superfamille des Cicadoidea (cigales) comprend plus de 3 000 espèces d'insectes qui se nourrissent de la sève des plantes. Si la plupart des espèces vivent sous les tropiques, quelques-unes sont présentes dans les zones tempérées. C'est le cas de la petite cigale des montagnes (*Cicadetta montana*), espèce protégée en Belgique, qui prospère sur les pelouses calcaires dans la vallée du Viroin et en Gaume. Une 2^{ème} espèce (*Cicadetta cantilatrix*) pourrait également être présente en Belgique. En plus de « chanter » et d'avoir un cycle de vie complexe, les cigales ont la particularité d'avoir développé des associations symbiotiques complexes avec des micro-organismes symbiotiques (généralement des bactéries, parfois des champignons) qui sont logés dans des cellules spécifiques (les bactériocytes) formant un organe de la symbiose (bactériome). Ces partenaires microbiens fournissent à l'insecte des nutriments qu'il ne peut trouver dans son alimentation. Bien que les systèmes symbiotiques des cigales aient fait l'objet de quelques études, ils restent peu étudiés par rapport à d'autres groupes d'insectes et les données génomiques sont lacunaires. Ce type de données sont pourtant indispensables pour comprendre l'évolution et l'écologie de ces insectes. L'objectif principal de ce mémoire est de caractériser anatomiquement et génétiquement le système symbiotique de *C. montana*. Pratiquement, l'organisation des organes symbiotiques sera étudiée via différentes approches de microscopie à partir d'individus collectés sur le terrain (Belgique et France). Il s'agira aussi d'extraire l'ADN des organes symbiotiques pour identifier les microorganismes associés à l'espèce avec une approche de métabarcoding. Enfin, l'extraction de l'ADN de la cigale permettra d'initier le séquençage de son génome et de celui de ses symbiotes. L'obtention de ces séquences est nécessaire pour comprendre le fonctionnement de la symbiose nutritionnelle et offrir à la communauté le 1^{er} génome séquencé de *C. montana*. L'échantillonnage sera potentiellement l'occasion de tester l'hypothèse de la présence de *C. cantilatrix* en Belgique. Approches techniques : terrain (échantillonnage), dissection/microscopie, extraction d'ADN et analyses bioinformatiques simples. Ce mémoire se fera en co-promotion avec le Prof. Thierry Hance et s'appuiera sur l'expertise de Marc Migon. Une propension à l'indépendance est demandée.



Références

Thèse: <https://scholarworks.umt.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=11839&context=etd>

- Łukasik, P., & Kolasa, M. R. (2024). With a little help from my friends: the roles of microbial symbionts in insect populations and communities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 379(1904), 20230122.
- Campbell, M. A., Van Leuven, J. T., Meister, R. C., Carey, K. M., Simon, C., & McCutcheon, J. P. (2015). Genome expansion via lineage splitting and genome reduction in the cicada endosymbiont *Hodgkinia*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(33), 10192-10199.
- Sudakaran, S., Kost, C., & Kaltenpoth, M. (2017). Symbiont acquisition and replacement as a source of ecological innovation. *Trends in Microbiology*, 25(5), 375-390.
- Brentassi, M. E., & de la Fuente, D. (2024). Obligate mutualistic heritable symbiosis in sap-feeding insects: an intricate relationship in nature. *Symbiosis*, 92(2), 159-185.
- McCutcheon, J. P., McDonald, B. R., & Moran, N. A. (2009). Convergent evolution of metabolic roles in bacterial co-symbionts of insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(36), 15394-15399.
- Campbell, M. A., Łukasik, P., Simon, C., & McCutcheon, J. P. (2017). Idiosyncratic genome degradation in a bacterial endosymbiont of periodical cicadas. *Current Biology*, 27(22), 3568-3575.
- Zheng, Z., Wang, D., He, H., & Wei, C. (2017). Bacterial diversity of bacteriomes and organs of reproductive, digestive and excretory systems in two cicada species (Hemiptera: Cicadidae). *PLoS One*, 12(4), e0175903.
- Łukasik, P., Nazario, K., Van Leuven, J. T., Campbell, M. A., Meyer, M., Michalik, A., ... & McCutcheon, J. P. (2018). Multiple origins of interdependent endosymbiotic complexes in a genus of cicadas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(2), E226-E235.
- Campbell, M. A., Łukasik, P., Meyer, M. C., Buckner, M., Simon, C., Veloso, C., ... & McCutcheon, J. P. (2018). Changes in endosymbiont complexity drive host-level compensatory adaptations in cicadas. *MBio*, 9(6), 10-1128.
- Matsuura, Y., Moriyama, M., Łukasik, P., Vanderpool, D., Tanahashi, M., Meng, X. Y., ... & Fukatsu, T. (2018). Recurrent symbiont recruitment from fungal parasites in cicadas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(26), E5970-E5979.
- Huang, Z., Wang, D., Li, J., Wei, C., & He, H. (2020). Transovarial transmission of bacteriome-associated symbionts in the cicada *Pycna repanda* (Hemiptera: Cicadidae). *Applied and Environmental Microbiology*, 86(12), e02957-19.
- Wang, D., & Wei, C. (2020). Bacterial communities in digestive and excretory organs of cicadas. *Archives of microbiology*, 202(3), 539-553.
- Wang, D., Huang, Z., Billen, J., Zhang, G., He, H., & Wei, C. (2021). Structural diversity of symbionts and related cellular mechanisms underlying vertical symbiont transmission in cicadas. *Environmental Microbiology*, 23(11), 6603-6621.
- Wang, D., Huang, Z., Billen, J., Zhang, G., He, H., & Wei, C. (2022). Complex co-evolutionary relationships between cicadas and their symbionts. *Environmental Microbiology*, 24(1), 195-211.
- Simon, C., Cooley, J. R., Karban, R., & Sota, T. (2022). Advances in the evolution and ecology of 13- and 17-year periodical cicadas. *Annual Review of Entomology*, 67(1), 457-482.
- Huang, Z., Zhou, J., Zhang, Z., He, H., & Wei, C. (2023). A study on symbiotic systems of cicadas provides new insights into distribution of microbial symbionts and improves fluorescence in situ hybridization technique. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2434.

Wang, D., He, H., & Wei, C. (2023). Cellular and potential molecular mechanisms underlying transovarial transmission of the obligate symbiont *Sulcia* in cicadas. *Environmental Microbiology*, 25(4), 836-852.

Puissant, S., & Boulard, M. (2000). *Cicadetta cerdaniensis*, species pair of *Cicadetta montana* described by acoustics (Auchenorrhyncha, Cicadidae, Tibicininae).

Gogala, M., & Trilar, T. (2004). Bioacoustic investigations and taxonomic considerations on the *Cicadetta montana* species complex (Homoptera: Cicadoidea: Tibicinidae). *Anais da Academia brasileira de ciências*, 76, 316-324.

Sueur, J., & Puissant, S. (2007, January). Biodiversity eavesdropping: bioacoustics confirms the presence of *Cicadetta montana* (Insecta: Hemiptera: Cicadidae) in France. In *Annales de la Société entomologique de France* (Vol. 43, No. 1, pp. 126-128). Taylor & Francis Group.

Hertach, T. (2007). Three species instead of only one: Distribution and ecology of the *Cicadetta montana* species complex (Hemiptera: Cicadoidea) in Switzerland. *MITTEILUNGEN-SCHWEIZERISCHE ENTOMOLOGISCHE GESELLSCHAFT*, 80(1/2), 37.

Gogala, M., Drosopoulos, S., & Trilar, T. (2008). *Cicadetta montana* complex (Hemiptera, Cicadidae) in Greece—a new species and new records based on bioacoustics. *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, 55(1), 91-100.

Wade, E. J., Hertach, T., Gogala, M., Trilar, T., & Simon, C. (2015). Molecular species delimitation methods recover most song-delimited cicada species in the European *Cicadetta montana* complex. *Journal of Evolutionary Biology*, 28(12), 2318-2336.

Sueur, J., & Puissant, S. (2007). Similar look but different song: a new *Cicadetta* species in the *montana* complex (Insecta, Hemiptera, Cicadidae). *Zootaxa*, 1442(1), 55-68.

https://www.friscris.be/files/338917/1993_Cicadetta_Meuse_Ardenne.pdf

<https://cdnfiles2.biolovision.net/www.faune-champagne-ardenne.org/userfiles/Cigales/Delorme2014-LapetitecigaledesmontagnesdanslesArdennes-SHNA.pdf>

https://www.friscris.be/files/338931/2006_Cigale_montagnes.pdf

La fonction écologique du crachat de coucou de *Philaenus spumarius* : Caractérisation de la composition chimique et microbienne

Les insectes construisent, à partir de matériaux divers, une myriade de structures qui peuvent remplir différentes fonctions (protection contre les ennemis, contre les stress abiotiques). La variété des structures construites par les insectes reflète la diversité des adaptations de ces invertébrés pour faire face aux contraintes écologiques dans leur habitat spécifique. La cicadelle *Philaenus spumarius* est une petite espèce d'insecte hémiptère commune en Europe. Très polyphage, elle se nourrit du xylème de nombreuses plantes herbacées et ligneuses et peut transmettre *Xylella fastidiosa*, une bactérie phytopathogène qui est responsable de la destruction de nombreuses cultures. Les larves de *P. spumarius* produisent des nids de mousse (crachats de coucou) que l'on peut observer au printemps dans les prairies. Ces amas spumeux protègent les larves des prédateurs et servent de protection thermique. Cependant, la composition chimique et microbiologique de ces sécrétions est inconnue. Ce mémoire a pour objectif de caractériser la composition chimique et microbiologique de ces crachats pour comprendre comment ces structures contribuent à protéger les larves. Cette recherche fera appel aux approches de chromatographie et de metabarcoding qui seront appliquées à des échantillons de terrain. Il s'agira aussi de déterminer si la diversité microbiologique présente dans les crachats reflète la diversité microbiologique associées à l'insecte pour tester l'hypothèse d'une transmission de bactérie phytopathogènes via les sécrétions. Approches techniques : terrain (échantillonnage), chromatographie, extraction d'ADN et analyses bioinformatiques simples. Ce mémoire se fera en co-promotion avec le Prof. Claude Bragard (ELIM) et s'appuiera sur l'expertise du CRA-W et de la plateforme analytique MOCA. Une propension à l'indépendance est demandée.



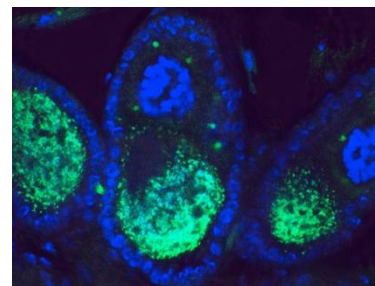
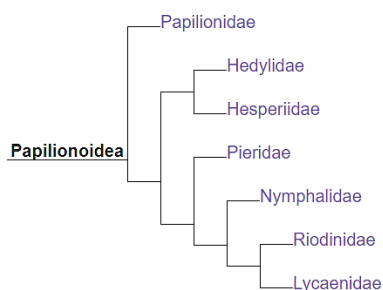
Références

- Sane, S. P., Ramaswamy, S. S., & Raja, S. V. (2020). Insect architecture: structural diversity and behavioral principles. *Current Opinion in Insect Science*, 42, 39-46.
- Hoch, H., Pingel, M., Voigt, D., Wyss, U., & Gorb, S. (2024). Adhesive properties of Aphrophoridae spittlebug foam. *Journal of the Royal Society Interface*, 21(210), 20230521.
- Fischer, E. K. (2023). Form, function, foam: evolutionary ecology of anuran nests and nesting behaviour. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 378(1884), 20220141.
- Chen, X. U., MEYER-ROCHOW, V. B., Fereres, A., Morente, M., & LIANG, A. P. (2018). The role of biofoam in shielding spittlebug nymphs (Insecta, Hemiptera, Cercopidae) against bright light. *Ecological Entomology*, 43(3), 273-281.
- Tonelli, M., Gomes, G., Silva, W. D., Magri, N. T., Vieira, D. M., Aguiar, C. L., & Bento, J. M. S. (2018). Spittlebugs produce foam as a thermoregulatory adaptation. *Scientific reports*, 8(1), 4729.
- Sahayaraj, K., Saranya, B., Sayed, S., Estelle, L. Y. L., & Madasamy, K. (2021). Biofoam of spittlebug, *Poophilus costalis* (Walker): preferential sites, temperature regulation, chemical composition and antimicrobial activity. *Insects*, 12(4), 340.
- Szterk, A., Flis, S., Ofiara, K., & Strus, B. (2024). Chemical composition of the foam enfolding juveniles of *Aphrophora alni* (Hemiptera: Aphrophoridae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 27(1), 102185.
- Zhang, X., Chen, H., Chen, X., & Liang, A. (2024). Genomic and Transcriptomic Insights into the Genetic Basis of Foam Secretion in Rice Spittlebug *Callitettix versicolor*. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(4), 2012
- Keskinen, E., & Meyer-Rochow, V. B. (2004). Post-embryonic photoreceptor development and dark/light adaptation in the spittle bug *Philaenus spumarius* (L.) (Homoptera, Cercopidae). *Arthropod structure & development*, 33(4), 405-417.
- Beckett, K. I., Robertson, A. B., & Matthews, P. G. (2019). Studies on gas exchange in the meadow spittlebug, *Philaenus spumarius*: The metabolic cost of feeding on, and living in, xylem sap. *Journal of Experimental Biology*, 222(3), jeb191973.
- Nencioni, A., Pastorelli, R., Bigiotti, G., Cucu, M. A., & Sacchetti, P. (2023). Diversity of the bacterial community associated with hindgut, Malpighian tubules, and foam of nymphs of two spittlebug species (Hemiptera: Aphrophoridae). *Microorganisms*, 11(2), 466.
- Palecek, A. (2024). Sticky spittlebug foam forms predator pitfalls. *Journal of Experimental Biology*, 227(7).
- Cornara, D., Bosco, D., & Fereres, A. (2018). *Philaenus spumarius*: when an old acquaintance becomes a new threat to European agriculture. *Journal of pest science*, 91, 957-972.
- Saponari, M., Loconsole, G., Cornara, D., Yokomi, R. K., De Stradis, A., Boscia, D., ... & Porcelli, F. (2014). Infectivity and transmission of *Xylella fastidiosa* by *Philaenus spumarius* (Hemiptera: Aphrophoridae) in Apulia, Italy. *Journal of economic entomology*, 107(4), 1316-1319.
- Lago, C., Garzo, E., Moreno, A., Barrios, L., Martí-Campoy, A., Rodríguez-Ballester, F., & Fereres, A. (2021). Flight performance and the factors affecting the flight behaviour of *Philaenus spumarius* the main vector of *Xylella fastidiosa* in Europe. *Scientific Reports*, 11(1), 17608.
- Formisano, G., Iodice, L., Cascone, P., Sacco, A., Quarto, R., Cavalieri, V., ... & Giorgini, M. (2022). *Wolbachia* infection and genetic diversity of Italian populations of *Philaenus spumarius*, the main vector of *Xylella fastidiosa* in Europe. *Plos one*, 17(8), e0272028.

- Kolasa, M., Kajtoch, Ł., Michalik, A., Maryńska-Nadachowska, A., & Łukasik, P. (2023). Till evolution do us part: The diversity of symbiotic associations across populations of *Philaenus* spittlebugs. *Environmental Microbiology*, 25(11), 2431-2446.
- Koga, R., Bennett, G. M., Cryan, J. R., & Moran, N. A. (2013). Evolutionary replacement of obligate symbionts in an ancient and diverse insect lineage. *Environmental microbiology*, 15(7), 2073-2081.
- Koga, R., & Moran, N. A. (2014). Swapping symbionts in spittlebugs: evolutionary replacement of a reduced genome symbiont. *The ISME journal*, 8(6), 1237-1246.
- Ankrah, N. Y., Wilkes, R. A., Zhang, F. Q., Aristilde, L., & Douglas, A. E. (2020). The metabolome of associations between xylem-feeding insects and their bacterial symbionts. *Journal of chemical ecology*, 46, 735-744.
- Serio, F. D., Bodino, N., Cavalieri, V., Demichelis, S., Carolo, M. D., Dongiovanni, C., ... & Bosco, D. (2019). Collection of data and information on biology and control of vectors of *Xylella fastidiosa*. *EFSA Supporting Publications*, 16(5), 1628E.
- Brentassi, M. E., & de la Fuente, D. (2024). Obligate mutualistic heritable symbiosis in sap-feeding insects: an intricate relationship in nature. *Symbiosis*, 92(2), 159-185.
- Ankrah, N. Y., Chouaia, B., & Douglas, A. E. (2018). The cost of metabolic interactions in symbioses between insects and bacteria with reduced genomes. *MBio*, 9(5), 10-1128.
- Cameirão, C., Costa, D., Rufino, J., Pereira, J. A., Lino-Neto, T., & Baptista, P. (2024). Diversity, Composition, and Specificity of the *Philaenus spumarius* Bacteriome. *Microorganisms*, 12(2), 298.

Manipulation de la reproduction des papillons : Prévalence et diversité *Wolbachia* *pipientis* chez les Papilionoidea du Benelux

Wolbachia pipientis est le symbiote héritable le plus répandu chez les insectes : on estime que la bactérie infecte entre 40 et 60% des espèces d'insectes, ce qui en fait donc un des symbiotes les plus répandus dans le monde animal. *Wolbachia* est surtout connue pour manipuler la reproduction des insectes de façon à biaiser le sex-ratio en faveur des femelles, ce qui favorise sa transmission et sa dissémination au sein des populations d'insectes. Le spectre d'action de *Wolbachia* est large et la bactérie est fréquente chez les lépidoptères, dont quelques espèces servent de modèle pour étudier les phénotypes induits par le symbiote, tels que le « male killing », l'incompatibilité cytoplasmique et la féminisation des mâles. Cependant, la plupart des études se concentrent sur des espèces tropicales asiatiques, et l'interaction entre *Wolbachia* est les espèces de lépidoptères évoluant dans des climats tempérés a été peu étudiée. La recherche proposée dans ce mémoire vise à combler cette lacune. L'objectif du mémoire est d'étudier la prévalence et la diversité de *Wolbachia* chez les espèces de Papilionoidea présentes en Belgique, au Luxembourg et aux Pays-Bas. Ce mémoire est la première étape d'une étude qui devrait s'étendre sur plusieurs années. Dans un premier temps, des échantillons issus du terrain et de diverses collections seront récoltés. Des analyses morphologiques et moléculaires (barcoding) seront utilisées pour identifier les espèces de papillons. *Wolbachia* sera détecté dans les échantillons par PCR diagnostique via l'utilisation de primers spécifiques. Une approche phylogénétique MLST (Multi Locus Sequencing Typing) sera ensuite utilisée pour cartographier plus précisément la diversité des *Wolbachia* chez les papillons et établir des relations phylogénétiques entre les souches. L'étape finale sera de corréler les résultats de prévalence et de diversité du symbiote à la diversité Papilionoidea et à leurs caractéristiques écologiques associées (spécialiste vs. généraliste, intérêt agronomique, etc.) et de relier ces informations au statut de conservation des espèces étudiées (catégorie de la liste rouge de l'UICN). Ce dernier point est particulièrement important car, en manipulant la reproduction des papillons, *Wolbachia* pourrait contribuer à isoler les populations de certaines espèces, ce qui pourrait accentuer leur déclin. Approches techniques : terrain (communication avec des musées, des collectionneurs, des musées, etc. pour l'échantillonnage), dissection, extraction d'ADN et analyses phylogénétiques. Ce mémoire se fera en partenariat avec le Prof. Patrick Mardulyn (Unité de Biologie Evolutive et Ecologie, ULB). Une propension à l'indépendance est demandée. Ce sujet peut éventuellement faire l'objet de deux mémoires conjoints.



Références

- Kaur, R., Shropshire, J. D., Cross, K. L., Leigh, B., Mansueto, A. J., Stewart, V., ... & Bordenstein, S. R. (2021). Living in the endosymbiotic world of Wolbachia: a centennial review. *Cell host & microbe*, 29(6), 879-893.
- Gerth, M., Gansauge, M. T., Weigert, A., & Bleidorn, C. (2014). Phylogenomic analyses uncover origin and spread of the Wolbachia pandemic. *Nature communications*, 5(1), 5117.
- Porter, J., & Sullivan, W. (2023). The cellular lives of Wolbachia. *Nature Reviews Microbiology*, 21(11), 750-766.
- Saridaki, A., & Bourtzis, K. (2010). Wolbachia: more than just a bug in insects genitals. *Current opinion in microbiology*, 13(1), 67-72.
- Russell, J. A., Funaro, C. F., Giraldo, Y. M., Goldman-Huertas, B., Suh, D., Kronauer, D. J., ... & Pierce, N. E. (2012). A veritable menagerie of heritable bacteria from ants, butterflies, and beyond: broad molecular surveys and a systematic review. *PLoS One*, 7(12), e51027.
- Vancaester, E., & Blaxter, M. (2023). Phylogenomic analysis of Wolbachia genomes from the Darwin Tree of Life biodiversity genomics project. *PLoS Biology*, 21(1), e3001972.
- Espeland, M., Breinholt, J., Willmott, K. R., Warren, A. D., Vila, R., Toussaint, E. F., ... & Kawahara, A. Y. (2018). A comprehensive and dated phylogenomic analysis of butterflies. *Current Biology*, 28(5), 770-778.
- Heikkilä, M., Kaila, L., Mutanen, M., Peña, C., & Wahlberg, N. (2012). Cretaceous origin and repeated tertiary diversification of the redefined butterflies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1731), 1093-1099.
- Ahmed, M. Z., Breinholt, J. W., & Kawahara, A. Y. (2016). Evidence for common horizontal transmission of Wolbachia among butterflies and moths. *BMC evolutionary biology*, 16, 1-16.
- Shastri, V., Bell, K. L., Buerkle, C. A., Fordyce, J. A., Forister, M. L., Gompert, Z., ... & Nice, C. C. (2022). A continental-scale survey of Wolbachia infections in blue butterflies reveals evidence of interspecific transfer and invasion dynamics. *G3*, 12(10), jkac213.
- Ahmed, M. Z., Araujo-Jnr, E. V., Welch, J. J., & Kawahara, A. Y. (2015). Wolbachia in butterflies and moths: geographic structure in infection frequency. *Frontiers in Zoology*, 12, 1-9.
- Jiggins, Hurst, Dolman, & Majerus. (2000). High-prevalence male-killing Wolbachia in the butterfly *Acraea encedana*. *Journal of Evolutionary Biology*, 13(3), 495-501.
- Nice, C. C., Gompert, Z., Forister, M. L., & Fordyce, J. A. (2009). An unseen foe in arthropod conservation efforts: the case of Wolbachia infections in the Karner blue butterfly. *Biological Conservation*, 142(12), 3137-3146.
- Warren, M. S., Maes, D., van Swaay, C. A., Goffart, P., Van Dyck, H., Bourn, N. A., ... & Ellis, S. (2021). The decline of butterflies in Europe: Problems, significance, and possible solutions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(2), e2002551117.
- Narita, S., Nomura, M., Kato, Y., & Fukatsu, T. (2006). Genetic structure of sibling butterfly species affected by Wolbachia infection sweep: evolutionary and biogeographical implications. *Molecular Ecology*, 15(4), 1095-1108.
- Hiroki, M., Tagami, Y., Miura, K., & Kato, Y. (2004). Multiple infection with Wolbachia inducing different reproductive manipulations in the butterfly *Eurema hecabe*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271(1549), 1751-1755.
- Duploux, A., Hurst, G. D., O'Neill, S. L., & Charlat, S. (2010). Rapid spread of male-killing Wolbachia in the butterfly *Hypolimnas bolina*. *Journal of evolutionary biology*, 23(1), 231-235.

Duplouy, A., & Brattström, O. (2018). Wolbachia in the genus *Bicyclus*: a forgotten player. *Microbial ecology*, 75, 255-263.

Sumi, T., Miura, K., & Miyatake, T. (2017). Wolbachia density changes seasonally amongst populations of the pale grass blue butterfly, *Zizeeria maha* (Lepidoptera: Lycaenidae). *PLoS One*, 12(4), e0175373.

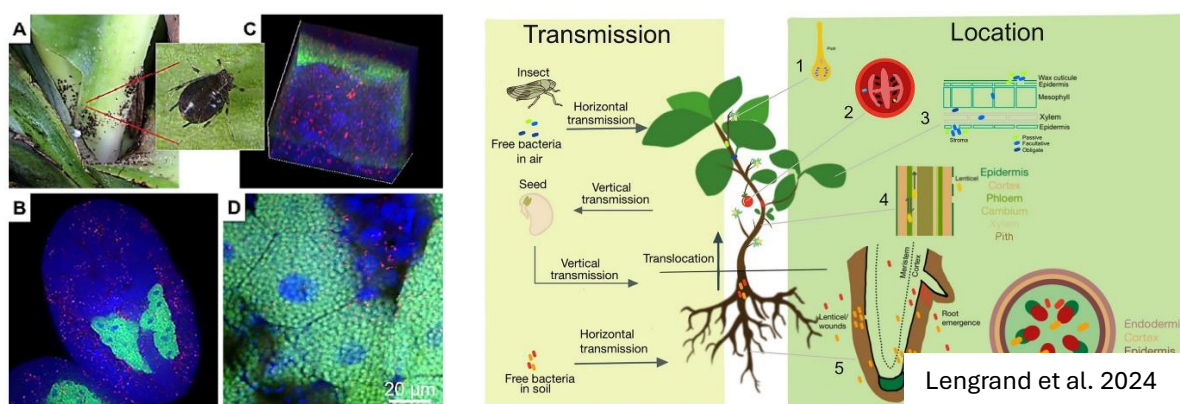
Arif, S., Gerth, M., Hone-Millard, W. G., Nunes, M. D., Dapporto, L., & Shreeve, T. G. (2021). Evidence for multiple colonisations and Wolbachia infections shaping the genetic structure of the widespread butterfly *Polyommatus icarus* in the British Isles. *Molecular Ecology*, 30(20), 5196-5213.

Miyata, M., Nomura, M., & Kageyama, D. (2024). Rapid spread of a vertically transmitted symbiont induces drastic shifts in butterfly sex ratio. *Current Biology*, 34(10), R490-R492.

Kageyama, D., Ohno, M., Sasaki, T., Yoshido, A., Konagaya, T., Jouraku, A., ... & Sahara, K. (2017). Feminizing Wolbachia endosymbiont disrupts maternal sex chromosome inheritance in a butterfly species. *Evolution Letters*, 1(5), 232-244.

Caractérisation de la diversité fonctionnelle du microbiote bactérien du puceron du bananier *Pentalonia nigronervosa*

Les insectes interagissent étroitement avec une diversité de microorganismes pouvant être commensaux, mutualistes ou pathogènes. Cette diversité constitue le microbiote et a des implications majeures pour l'écologie évolutive des insectes. Certaines bactéries qui composent ce microbiote sont héréditaires, c-à-d qu'elles sont transmises de génération en génération. Comme toutes les espèces de pucerons (super-famille Aphidoidea), le puceron du bananier *Pentalonia nigronervosa* héberge le symbiote nutritionnel intracellulaire *Buchnera aphidicola*, qui lui fournit des nutriments (acides aminés) qu'il ne trouve pas en quantités suffisantes dans la sève phloémienne. Cette espèce de puceron est atypique : elle est l'une des rares à évoluer dans des climats chauds et à être infectée par la bactérie *Wolbachia pipientis*, le symbiote héréditaire le plus répandu dans les populations d'insectes (40-60% des espèces sont infectées). Une expérience pilote a permis d'isoler quelques bactéries endophytes (dérivées des plantes). Cela suggère que des bactéries associées au bananier peuvent être acquises par l'insecte, ce dernier pouvant à son tour servir de vecteur et transmettre les bactéries à d'autres bananiers. Cette expérience pilote, reposant sur un seul milieu de culture, n'a pas permis d'isoler et de cultiver *Wolbachia*, symbiote réputé incultivable en culture pure mais qui semble pouvoir circuler dans la sève des plantes. L'objectif de ce mémoire est d'isoler et d'identifier la diversité des bactéries cultivables chez *P. nigronervosa* en utilisant différents milieux microbiologiques. L'ambition est double : cultiver des bactéries endophytes à partir d'une lignée clonale de *P. nigronervosa* maintenue sur différents cultivars de bananiers et tenter d'isoler *Wolbachia* en culture pure en utilisant des milieux microbiologiques pour microorganismes exigeants. Ce mémoire permettra de cartographier la diversité bactérienne impliquée dans les interactions bananier-puceron et de générer une banque d'isolats dont les génomes seront séquencés et annotés. La mise en culture de *Wolbachia* serait une avancée considérable : réputé incultivable, sa mise en culture permettrait d'utiliser des approches de génie génétique qui sont essentielles pour comprendre ses interactions avec l'hôte et ouvrir la porte à des perspectives appliquées. Approches techniques : cultures cellulaires en conditions stériles, extraction d'ADN, PCR, séquençage, approches bio-informatiques (simples). Ce mémoire se fera en co-promotion avec la Prof. Anne Legrève (ELIM) et avec l'appui de la plateforme CTMA (UCLouvain Woluwe).



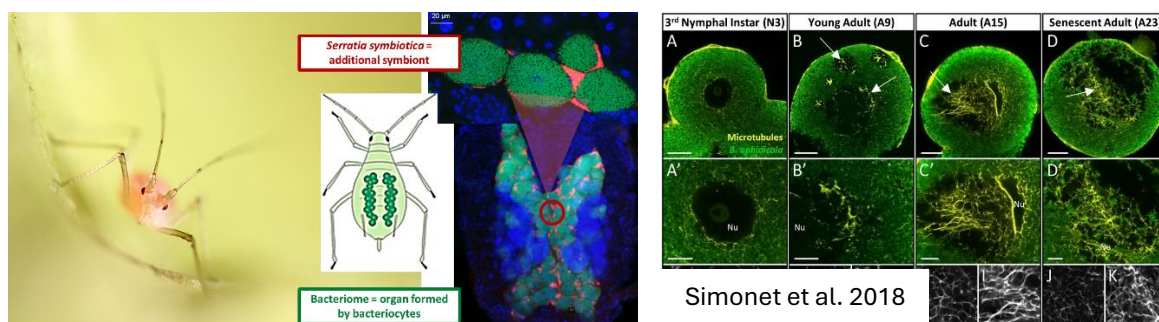
Références

- Kaur, R., Shropshire, J. D., Cross, K. L., Leigh, B., Mansueto, A. J., Stewart, V., ... & Bordenstein, S. R. (2021). Living in the endosymbiotic world of Wolbachia: a centennial review. *Cell host & microbe*, 29(6), 879-893.
- Gerth, M., Gansauge, M. T., Weigert, A., & Bleidorn, C. (2014). Phylogenomic analyses uncover origin and spread of the Wolbachia pandemic. *Nature communications*, 5(1), 5117.
- Augustinos, A. A., Santos-Garcia, D., Dionyssopoulou, E., Moreira, M., Papapanagiotou, A., Scarvelakis, M., ... & Bourtzis, K. (2011). Detection and characterization of Wolbachia infections in natural populations of aphids: is the hidden diversity fully unraveled?. *PloS one*, 6(12), e28695.
- Saridaki, A., & Bourtzis, K. (2010). Wolbachia: more than just a bug in insects genitals. *Current opinion in microbiology*, 13(1), 67-72.
- Pietri, J. E., DeBruhl, H., & Sullivan, W. (2016). The rich somatic life of Wolbachia. *Microbiologyopen*, 5(6), 923-936.
- Gómez-Valero, L., Soriano-Navarro, M., Pérez-Brocal, V., Heddi, A., Moya, A., García-Verdugo, J. M., & Latorre, A. (2004). Coexistence of Wolbachia with Buchnera aphidicola and a secondary symbiont in the aphid Cinara cedri. *Journal of bacteriology*, 186(19), 6626-6633.
- Wang, Z., Su, X. M., Wen, J., Jiang, L. Y., & Qiao, G. X. (2014). Widespread infection and diverse infection patterns of Wolbachia in Chinese aphids. *Insect Science*, 21(3), 313-325.
- Moreira, M., Aguiar, A. M., Bourtzis, K., Latorre, A., & Khadem, M. (2019). Wolbachia (Alphaproteobacteria: Rickettsiales) infections in isolated aphid populations from oceanic Islands of the Azores archipelago: Revisiting the supergroups M and N. *Environmental Entomology*, 48(2), 326-334.
- Wang, Z., Shen, Z. R., Song, Y., Liu, H. Y., & Li, Z. X. (2009). Distribution and diversity of Wolbachia in different populations of the wheat aphid Sitobion miscanthi (Hemiptera: Aphididae) in China. *European Journal of Entomology*, 106(1).
- Hosokawa, T., Koga, R., Kikuchi, Y., Meng, X. Y., & Fukatsu, T. (2010). Wolbachia as a bacteriocyte-associated nutritional mutualist. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(2), 769-774.
- Mathers, T. C., Mugford, S. T., Hogenhout, S. A., & Tripathi, L. (2020). Genome sequence of the banana aphid, Pentalonía nigronervosa Coquerel (Hemiptera: Aphididae) and its symbionts. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 10(12), 4315-4321.
- De Clerck, C., Tsuchida, T., Massart, S., Lepoivre, P., Francis, F., & Jjakli, M. H. (2014). Combination of genomic and proteomic approaches to characterize the symbiotic population of the banana aphid (Hemiptera: Aphididae). *Environmental Entomology*, 43(1), 29-36.
- De Clerck, C., Fujiwara, A., Joncour, P., Léonard, S., Félix, M. L., Francis, F., ... & Massart, S. (2015). A metagenomic approach from aphid's hemolymph sheds light on the potential roles of co-existing endosymbionts. *Microbiome*, 3, 1-11.
- Manzano-Marín, A. (2020). No evidence for Wolbachia as a nutritional co-obligate endosymbiont in the aphid Pentalonía nigronervosa. *Microbiome*, 8(1), 72.
- Yao, I. (2023). Mutualism enhances Wolbachia infection rates in ant-attended Tuberculatus aphid species (Hemiptera: Aphididae). *Evolutionary Ecology*, 37(4), 627-643.
- Zytynska, S. E., & Weisser, W. W. (2016). The natural occurrence of secondary bacterial symbionts in aphids. *Ecological Entomology*, 41(1), 13-26.
- Ting, A. S., Meon, S., Kadir, J., Radu, S., & Singh, G. (2008). Endophytic microorganisms as potential growth promoters of banana. *BioControl*, 53, 541-553.

- Beltran-Garcia, M. J., Martinez-Rodriguez, A., Olmos-Arriaga, I., Valdez-Salas, B., Chavez-Castrillon, Y. Y., Di Mascio, P., & White, J. F. (2021). Probiotic endophytes for more sustainable banana production. *Microorganisms*, 9(9), 1805.
- Nakkeeran, S., Rajamanickam, S., Saravanan, R., Vanthana, M., & Soorianathasundaram, K. (2021). Bacterial endophytome-mediated resistance in banana for the management of Fusarium wilt. *3 Biotech*, 11(6), 267.
- Andrade, L. F., de Souza, G. L. O. D., Nietsche, S., Xavier, A. A., Costa, M. R., Cardoso, A. M. S., ... & Pereira, D. F. G. S. (2014). Analysis of the abilities of endophytic bacteria associated with banana tree roots to promote plant growth. *Journal of Microbiology*, 52, 27-34.
- Li, S. J., Ahmed, M. Z., Lv, N., Shi, P. Q., Wang, X. M., Huang, J. L., & Qiu, B. L. (2017). Plant-mediated horizontal transmission of Wolbachia between whiteflies. *The ISME journal*, 11(4), 1019-1028.
- Frank, A. C., Saldierna Guzmán, J. P., & Shay, J. E. (2017). Transmission of bacterial endophytes. *Microorganisms*, 5(4), 70.
- Galambos, N., Compant, S., Wäckers, F., Sessitsch, A., Anfora, G., Mazzoni, V., ... & Perazzolli, M. (2021). Beneficial insects deliver plant growth-promoting bacterial endophytes between tomato plants. *Microorganisms*, 9(6), 1294.

Les systèmes symbiotiques des insectes sous stress thermique : réponse, plasticité et mécanismes sous-jacents

De nombreux taxons d'insectes ont développé une dépendance à l'égard de bactéries symbiotiques intracellulaires pour obtenir certains nutriments. Ces bactéries, acquises parfois il y a des dizaines de millions d'années, ont des génomes extrêmement réduits et des capacités d'adaptation limitées. Elles sont considérées comme un talon d'Achille pour les insectes hôtes, entravant leur capacité d'adaptation dans un contexte de fortes fluctuations environnementales telles que celles imposées par le changement climatique. La thermosensibilité des symbiotes obligatoires ancestraux est connue depuis longtemps, mais on sait peu de choses sur leur plasticité thermique et celle des cellules hôtes qui les hébergent : les bactériocytes. En cas de stress nutritif, ces cellules réagissent de manière très dynamique, en régulant les symbiotes qu'elles hébergent en fonction de la nature et de l'intensité du stress nutritif. On suppose qu'en cas de stress thermique, des mécanismes de régulation sont également spécifiquement déclenchés pour assurer l'homéostasie des bactériocytes et des symbiotes qu'ils hébergent (modulation du cytosquelette, processus de mort cellulaire, etc.). L'objectif de ce mémoire est d'étudier la réponse des systèmes symbiotiques à un stress thermique prolongé et de tester leur résilience. Le puceron du pois *Acyrtosiphon pisum* sera utilisé comme insecte modèle. Les traits d'histoire de vie des pucerons seront mesurés afin de déterminer l'impact du stress sur la fitness de l'insecte. La dynamique des symbiotes durant le développement sera quantifiée par des approches de cytométrie de flux et de microscopie confocale. Cette dernière approche permettra d'investiguer les processus cellulaires qui sont mis en place dans le contrôle des symbiotes par les bactériocytes (histologie et approches immunohistochimiques). Ces analyses seront réalisées sur un système mono-symbiotique (i.e. une lignée clonale d'*A. pisum* infectée uniquement par le symbiote obligatoire *Buchnera aphidicola*) afin de tester spécifiquement la plasticité thermique d'une symbiose obligatoire ancestrale. En fonction de l'avancement de la 1^{ère} phase, les expériences pourraient être étendues à des pucerons hébergeant des systèmes multi-symbiotiques impliquant un symbiote facultatif (*Serratia symbiotica*) conférant une résistance thermique dont les mécanismes sont inconnus. Ce projet devrait permettre de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à la plasticité et à la résilience du mutualisme bactérien sous stress thermique, et sa contribution à l'adaptation des insectes aux fluctuations environnementales. Ce mémoire sera proposé au Master BBMC, mais est ouvert au Master BOE pour autant que les candidats soient ouverts à l'utilisation des techniques de biologie cellulaire et moléculaire. Ce sujet pourra faire l'objet de deux mémoires conjoints collaboratifs. En fonction des techniques utilisées : en co-promotion avec le Prof. Patrick Dumont (LIBST) pour la cytométrie et avec le Prof. Frédéric Clotman (LIBST) pour les approches d'imagerie.



Références

- Bennett, G. M., & Moran, N. A. (2015). Heritable symbiosis: the advantages and perils of an evolutionary rabbit hole. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(33), 10169-10176.
- Renoz, F., Pons, I., & Hance, T. (2019). Evolutionary responses of mutualistic insect–bacterial symbioses in a world of fluctuating temperatures. *Current opinion in insect science*, 35, 20-26.
- Kikuchi, Y., Tada, A., Musolin, D. L., Hari, N., Hosokawa, T., Fujisaki, K., & Fukatsu, T. (2016). Collapse of insect gut symbiosis under simulated climate change. *MBio*, 7(5), 10-1128.
- Wernegreen, J. J. (2012). Mutualism meltdown in insects: bacteria constrain thermal adaptation. *Current opinion in microbiology*, 15(3), 255-262.
- Lemoine, M. M., Engl, T., & Kaltenpoth, M. (2020). Microbial symbionts expanding or constraining abiotic niche space in insects. *Current opinion in insect science*, 39, 14-20.
- Corbin, C., Heyworth, E. R., Ferrari, J., & Hurst, G. D. (2017). Heritable symbionts in a world of varying temperature. *Heredity*, 118(1), 10-20.
- Russell, J. A., & Moran, N. A. (2006). Costs and benefits of symbiont infection in aphids: variation among symbionts and across temperatures. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1586), 603-610.
- Martins, M., César, C. S., & Cogni, R. (2023). The effects of temperature on prevalence of facultative insect heritable symbionts across spatial and seasonal scales. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1321341.
- Iltis, C., Tougeron, K., Hance, T., Louâpre, P., & Foray, V. (2022). A perspective on insect–microbe holobionts facing thermal fluctuations in a climate-change context. *Environmental Microbiology*, 24(1), 18-29.
- Hudson, C. M., Stalder, D., & Vorburger, C. (2024). Clines of resistance to parasitoids: the multifarious effects of temperature on defensive symbioses in insects. *Current Opinion in Insect Science*, 101208.
- Zhang, B., Leonard, S. P., Li, Y., & Moran, N. A. (2019). Obligate bacterial endosymbionts limit thermal tolerance of insect host species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(49), 24712-24718.
- Moran, N. A., & Yun, Y. (2015). Experimental replacement of an obligate insect symbiont. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(7), 2093-2096.
- Tougeron, K., & Iltis, C. (2022). Impact of heat stress on the fitness outcomes of symbiotic infection in aphids: a meta-analysis. *Proceedings of the Royal Society B*, 289(1971), 20212660.
- Tougeron, K., Iltis, C., Rampnoux, E., Goerlinger, A., Dhondt, L., & Hance, T. (2023). Still standing: The heat protection delivered by a facultative symbiont to its aphid host is resilient to repeated thermal stress. *Current Research in Insect Science*, 3, 100061.
- Łukasik, P., & Kolasa, M. R. (2024). With a little help from my friends: the roles of microbial symbionts in insect populations and communities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 379(1904), 20230122.
- Clavé, C., Sugio, A., Morlière, S., Pincebourde, S., Simon, J. C., & Foray, V. (2022). Physiological costs of facultative endosymbionts in aphids assessed from energy metabolism. *Functional Ecology*, 36(10), 2580-2592.
- Ferguson, L. F., Ross, P. A., & van Heerwaarden, B. (2024). Wolbachia infection negatively impacts *Drosophila simulans* heat tolerance in a strain-and trait-specific manner. *Environmental Microbiology*, 26(4), e16609.
- Heyworth, E. R., & Ferrari, J. (2016). Heat stress affects facultative symbiont-mediated protection from a parasitoid wasp. *PLoS One*, 11(11), e0167180.
- Hector, T. E., Hoang, K. L., Li, J., & King, K. C. (2022). Symbiosis and host responses to heating. *Trends in Ecology & Evolution*, 37(7), 611-624.

- Burke, G., Fiehn, O., & Moran, N. (2010). Effects of facultative symbionts and heat stress on the metabolome of pea aphids. *The ISME journal*, 4(2), 242-252.
- Burke, G. R., McLaughlin, H. J., Simon, J. C., & Moran, N. A. (2010). Dynamics of a recurrent *Buchnera* mutation that affects thermal tolerance of pea aphid hosts. *Genetics*, 186(1), 367-372.
- Dunbar, H. E., Wilson, A. C. C., Ferguson, N. R., & Moran, N. A. (2007). Aphid thermal tolerance is governed by a point mutation in bacterial symbionts. *PLoS biology*, 5(5), e96.
- Montllor, C. B., Maxmen, A., & Purcell, A. H. (2002). Facultative bacterial endosymbionts benefit pea aphids *Acyrthosiphon pisum* under heat stress. *Ecological Entomology*, 27(2), 189-195.
- Parven, N., Yao, I., Kanbe, T., & Akimoto, S. I. (2021). Heat shock alters pea aphid–*Buchnera* interactions: negative allometry of gene densities. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 169(5), 462-471.
- Perreau, J., Zhang, B., Maeda, G. P., Kirkpatrick, M., & Moran, N. A. (2021). Strong within-host selection in a maternally inherited obligate symbiont: *Buchnera* and aphids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(35), e2102467118.
- Koga, R., Tsuchida, T., & Fukatsu, T. (2003). Changing partners in an obligate symbiosis: a facultative endosymbiont can compensate for loss of the essential endosymbiont *Buchnera* in an aphid. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1533), 2543-2550.
- Buerger, P., Alvarez-Roa, C., Coppin, C. W., Pearce, S. L., Chakravarti, L. J., Oakeshott, J. G., ... & Van Oppen, M. J. H. (2020). Heat-evolved microalgal symbionts increase coral bleaching tolerance. *Science Advances*, 6(20), eaba2498.