

Fables de symbioses (2): l'abeille et le moustique



Pr. Philippe J Sansonetti
Chaire de Microbiologie
et Maladies Infectieuses



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Leçon #3

20 décembre 2017



Cours

Fables de symbioses (2): "l'abeille et le moustique"

Séminaire

François Leulier

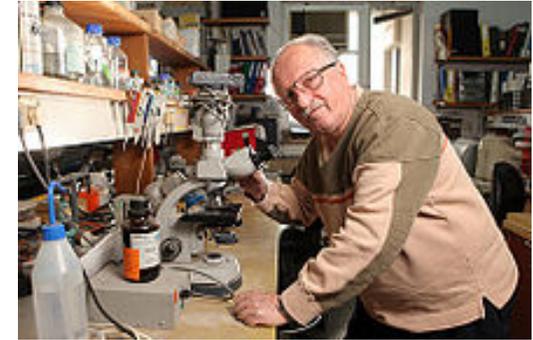
Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon
CNRS/ENS

Université Claude Bernard, Lyon-1



"Que nous apprennent les modèles animaux gnotobiotiques sur le rôle du microbiote intestinal dans le développement et le métabolisme ?"

De l'holobiotte à l'hologénome



Eugene Rosenberg

Théorie du "hologénome" proposée par Rosenberg (Rosenberg E et coll. 2007. Nat Rev Microbiol) pour conceptualiser l'association universelle des métazoaires avec une flore microbienne essentiellement procaryote: le microbiote

Postule que organismes supérieurs indissociablement unis à leur microbiote avec lequel ils forment une unité de sélection dans laquelle l'ensemble des gènes (eucaryotes et procaryotes) sont associés (Rosenberg E et coll. 2011. Birth Defects Res C Embryo Today)

Microbiote et phénotype élargi hôtes animaux

Nombreux microbes influencent phénotype de divers taxa
Insectes établissent associations avec communautés microbiennes, du commensalisme au mutualisme (Douglas AE. 2011. Cell Host Microbe)

Endosymbiotes transmis verticalement (symbioses primaires), influencent fonctions vitales = nutrition, protection contre agents infectieux, reproduction, développement

Buchnera aphidicola fournit acides aminés essentiels au puceron du haricot (Douglas AE. 1998. Annu Rev Entomol)

Winglessworthia glossinidi fournit vitamines à mouche tsé tsé (glossine) hématophage, vecteur maladie du sommeil, bénéficie en retour de nutriments (hydrates de carbone) (Akman et coll. 2002. Nat Genet; Pais et al. 2008. Appl Environment Microbiol)

Microbiote et phénotype élargi hôtes animaux

Intestin insectes = environnements alternatif pour colonisation microbienne acquise horizontalement +/- précocément dans étapes développement (symbioses secondaires)

Insectes présentent gamme étendue de situations en regard dépendance par rapport à leur microbiote intestinal

Plupart microbiotes intestinaux insectes limités à quelques espèces contrairement microbiotes intestinaux des mammifères

Exceptions:

Insectes colonisés par espèces opportunistes (en transit) reflétant environnement (difficile, rarement pris en compte)

Microbiote et phénotype élargi hôtes animaux

Cas particulier...

Insectes sociaux: termites, fourmis et abeilles = interactions sociales fortes existant entre individus accroissent chances transmission des bactéries intestinales

Symbioses microbiennes intestinales plus établies et plus stables, avec coeur partagé universel, donnant lieu à fonctions essentielles pour nutrition et protection animal

Ces symbioses existent aussi chez les autres populations d'insectes, mais plus difficiles à établir (Engel P & Moran NA. 2013. FEMS Microbiol Rev

Abeilles, quelques généralités

Centaines d'espèces d'abeilles

Apparition abeilles sociales
= environ 80 millions d'années

Marqueurs comportement social:

- Elevage collectif des jeunes
- Partage ressources alimentaires
- Défense colonie

Descendantes de ces groupes pionniers
= "abeilles domestiques" contemporaines

3 groupes abeilles domestiques:

Apis mellifera = principale abeille domestique (abeille à miel)

Abeilles sans aiguillons (zones intertropicales Amérique et Asie)

Bourdons (climats tempérés, Amériques et Eurasie)



Abeilles, quelques généralités

Abeilles = espèces solitaires à espèces hautement sociales
Comme pollinisatrices, abeilles essentielles à équilibre écosystèmes terrestres = composantes clés en agriculture
(Gallai et coll. 2008. Ecol Econ)

Hébergent microbiote, en particulier intestinal
(Kwong WK & Moran NA. 2016. Nat Rev Microbiol)
Microbiote = probablement rôle important dans leur santé

Pathogènes connus

Rôle commensaux dans homéostasie et santé mal connu
Forces évolutives et contraintes écologiques forgeant / altérant microbiote mal connues

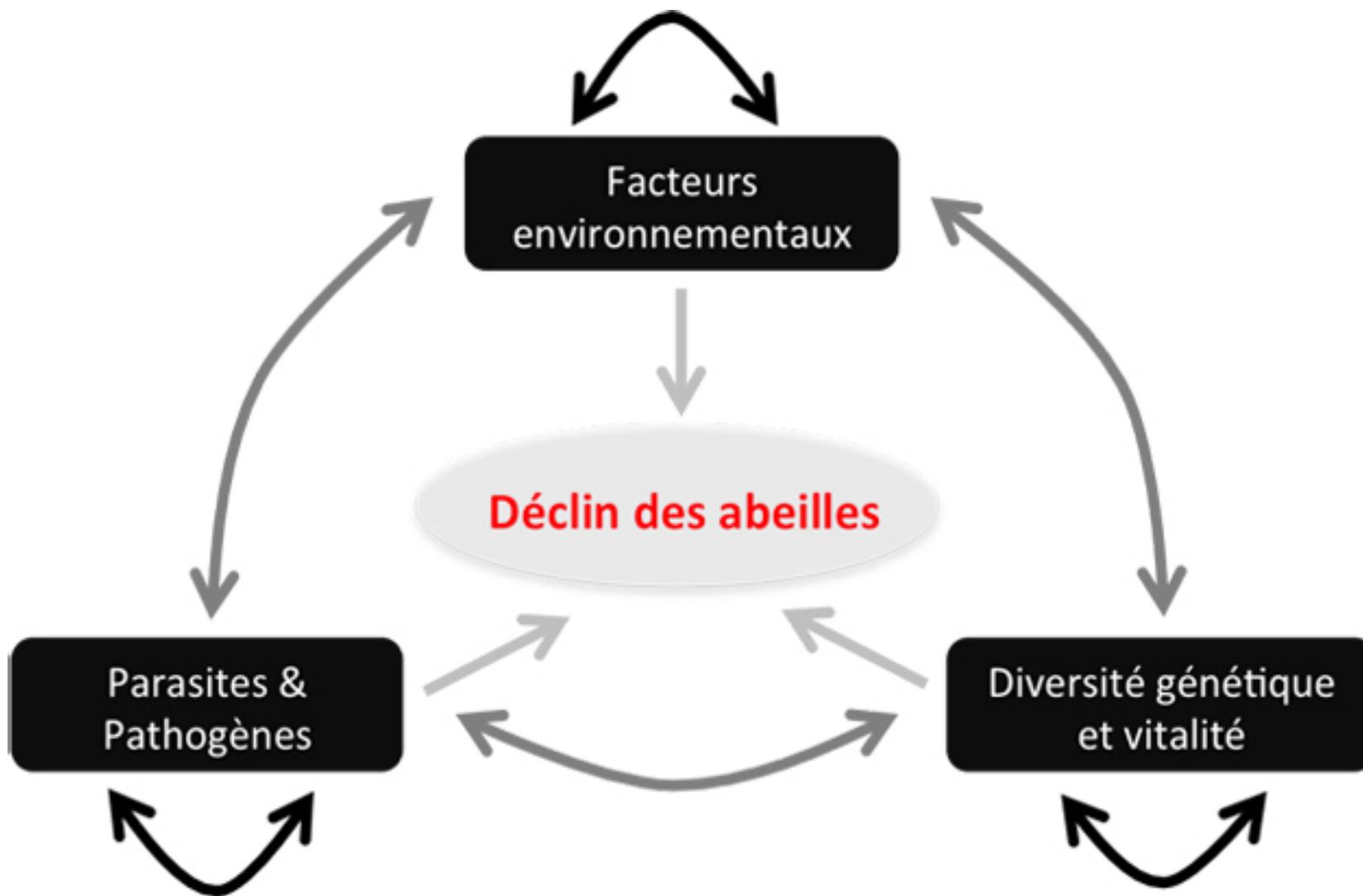
Reconnaissance fonctions microbiote abeille = solutions aux sérieuses menaces pesant sur espèces domestiques ?

Abeilles menacées

Diminution depuis années 80 populations abeilles à miel (Potts et coll. 2010. Trends Ecol Evol), attribuée à (Engel et coll. 2016. mBio; ANSES: Mortalité, effondrement et affaiblissement des colonies d'abeilles, rapports 2008/09):

- Utilisation large pesticides
- infections (bactéries, parasites, virus, champignons)
- Déficit nutritionnel (monoculture)
- Dégradation habitat
- Diminution diversité génétique = hypothèse discutée (Wallberg et coll. 2014. Nat Genet)

Abeilles menacées



Loque des abeilles

Important définir rôle microbiote dans aggravation ou prévention dégradation santé des abeilles...

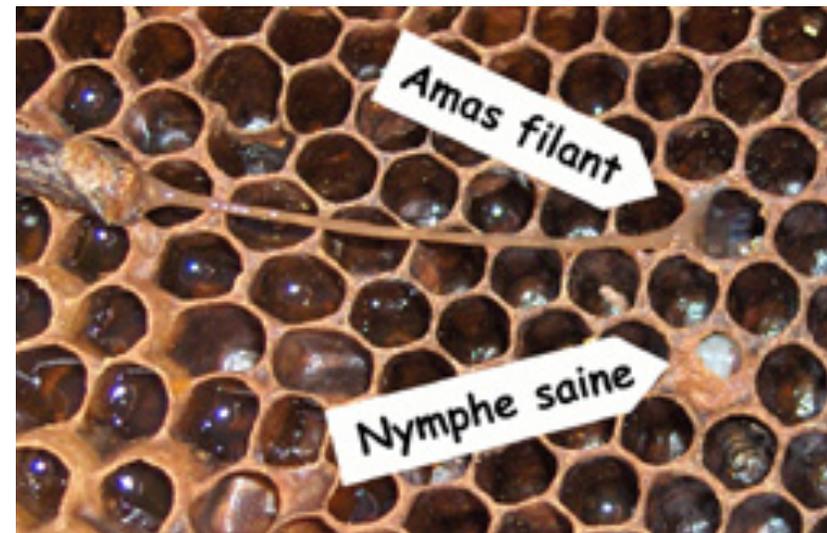
Abeilles hébergent large gamme microorganismes: virus, bactéries, champignons, protistes

Pathogènes: *Paenibacillus larvae* et *Melissococcus plutonium* respectivement responsables forme américaine et européenne

"Loque" = maladie couvain abeilles

(Evans JD & Schwarz RS.2011. Trends Microbiol)

Maladie létale pour colonie, désastre apiculture =nécessité détruire élevage



Nocémose des abeilles

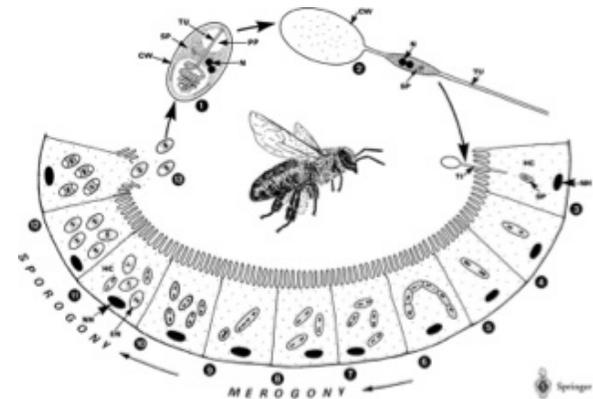
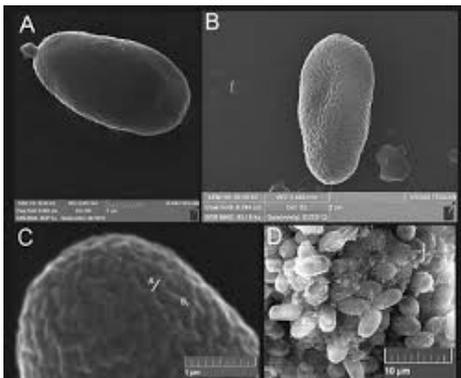
Pour autres pathogènes, impact sur santé individuelle abeilles et santé collective colonie moins clair (Evans JD & Schwarz RS. 2011. Trends Microbiol)

Nosémose = parasite intracellulaire envahissant épithélium intestinal

Pathogénicité réelle deux microsporidies (champignon microscopique unicellulaire): *Nosema apis* et *Nosema ceranae* discutée

Rôle dans récentes pertes de colonies ? Cofacteurs ?

Association avec le Fipronil stérilisant mâles (Alaux et coll. 2010. Environment Microbiol; Kairo et coll. 2017. Scientific Rep)



Viroses des abeilles et co-morbidités

Plus de 20 virus différents identifiés chez abeilles à miel
(McMenamin AJ & Generach E. 2015. Curr Opin Insect Sci)
Plupart peuvent affecter santé des abeilles à miel: modifications physiologiques mineures à déformations anatomiques majeures, troubles du comportement et longévité réduite
Variation selon l'hôte, établissement possible infection chronique asymptomatique (De Miranda et coll. 2013. J Apic Res)

Evidence croissante co-infections ou effets synergiques agents infectieux-pesticides (Doublet et coll. 2015. Environment Microbiol)

Transmission possible aux bourdons, abeilles solitaires et guêpes

Microbiote intestinal des abeilles

Insectes sociaux (termites, fourmis, abeilles domestiques) par leur cohabitation/proximité ont généré une symbiose mutualiste avec nombre limité d'espèces microbiennes acquises très tôt dans développement

Acquisition il y a 80 millions d'années de 5 espèces d'un ancêtre commun

Ont ensuite co-évolué et se sont diversifiées en fonction diversification des espèces hôtes

Ces 5 espèces bactériennes = coeur du microbiote abeilles domestiques *Apis mellifera*, bourdons, abeilles sans aiguillon

Mutualisme:

Apport de ces 5 espèces à l'abeille

Apport de l'abeille (microaérophilie, etc...)

Microbiote intestinal des abeilles

Abeilles à miel hébergent microbiote intestinal simple mais remarquablement spécialisé

8-10 espèces/phylotypes bactériens (> 97 % bactéries retrouvés chez tous les individus par séquences variables rARN 16S)

Trois principaux phyla: Protéobactéries, Actinobactéries, Firmicutes (Engel et coll. 2012. PNAS; Kwong WK & Moran NA. 2016. Nat Rev Microbiol)

Protéobactéries: *Gilliamella apicola*, *Snodgrassella alvi*
moins fréquentes = *Frischella perrara*, *Bartonella apis*,
Gluconobacter

Firmicutes: *Lactobacillus* (Firm 4 & 5)

Actinobactéries: *Bifidobacterium asteroides*

Microbiote intestinal des abeilles

Fonctions et nature de symbiose avec leur hôte mal définies

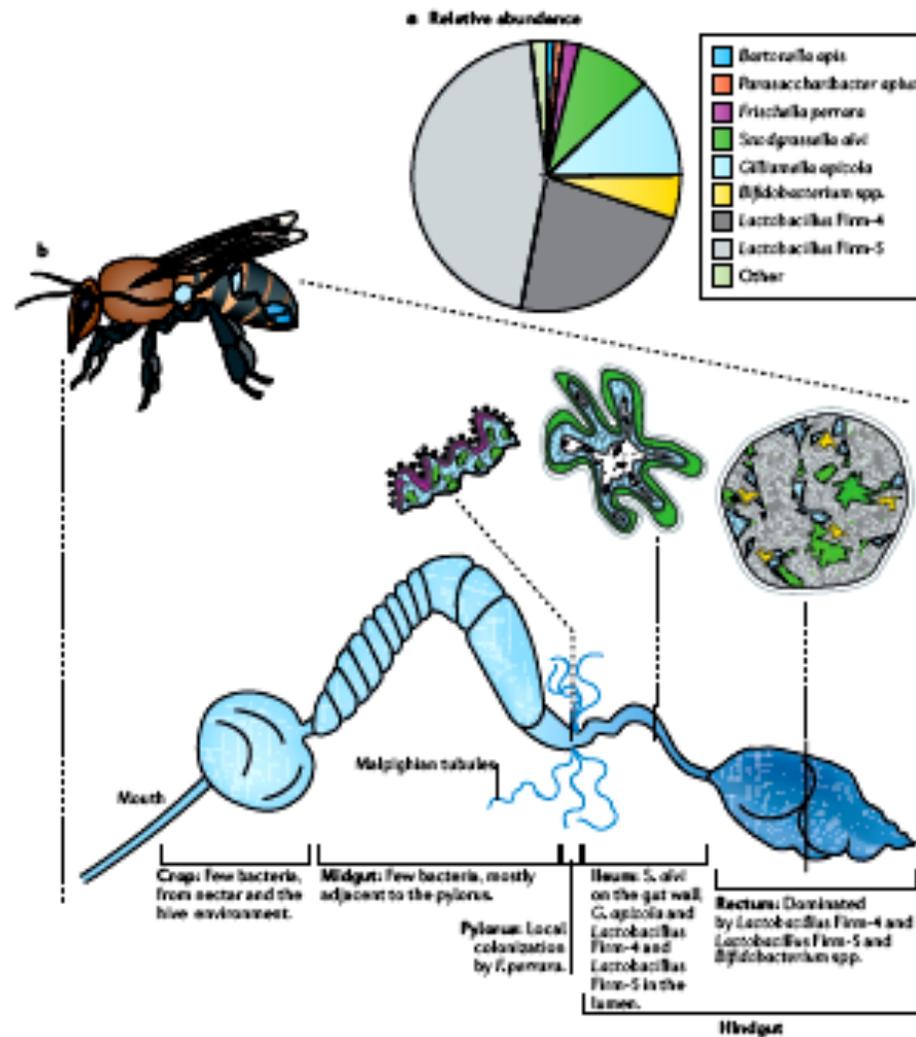
Analyse métagénomique suggère fonctions digestives (macromolécules), productions nutriments, neutralisation toxines alimentaires et défense anti-parasitaire (Lee et coll. 2015. Environm Microbiol)

Contrôle charge en pathogènes (bactéries, parasites, virus) par stimulation défenses immunitaires mal connu

Certains firmicutes peuvent inhiber croissance principaux pathogènes bactériens abeille: *Paenibacillus larvae* et *Melissococcus plutonium* (Forsgren et coll. 2010. Apidologie)

A noter: commensal fréquent, *Frischella perrara*, responsable mélanisation du pylore (Engel et coll. 2015. mBio) = phénotype galeux = pathobiote type SFB ? Stimulant réponse immune chez l'insecte ?

Composition et organisation spatiale du microbiote intestinal de l'abeille

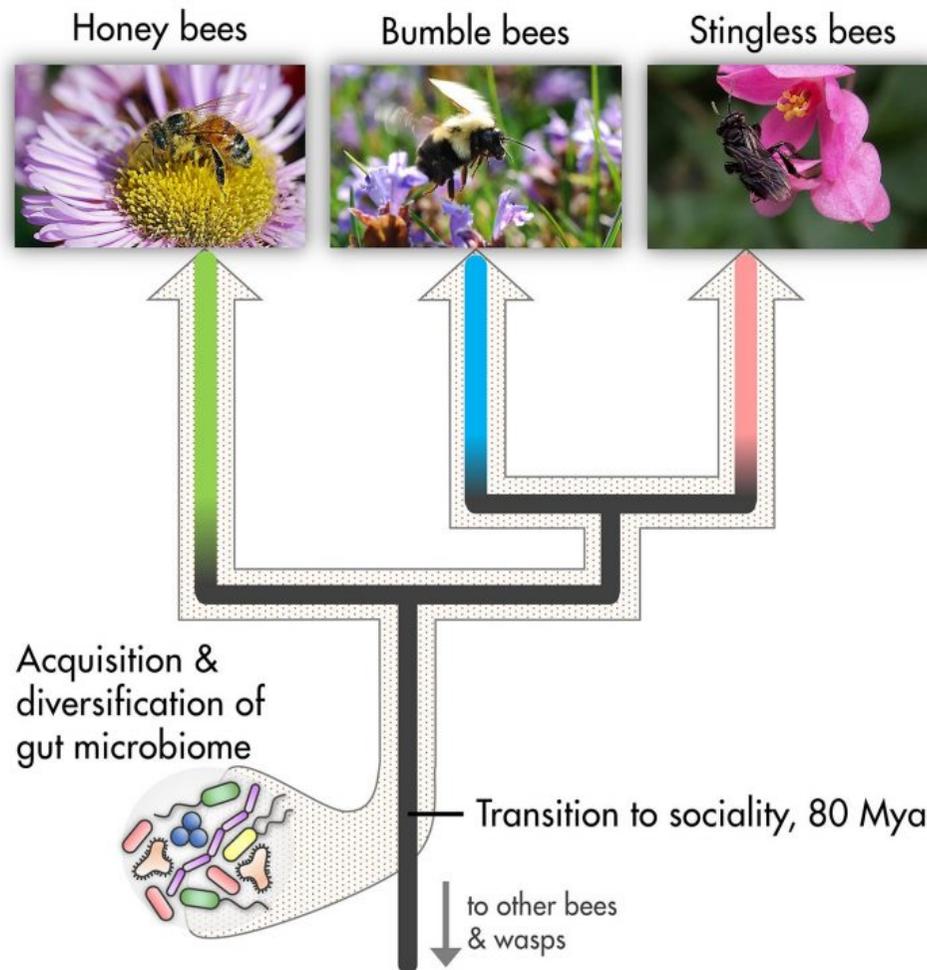


EVOLUTIONARY BIOLOGY

Dynamic microbiome evolution in social bees

Waldan K. Kwong,^{1,2*} Luis A. Medina,² Hauke Koch,^{2†} Kong-Wah Sing,^{3‡} Eunice Jia Yu Soh,⁴ John S. Ascher,⁴ Rodolfo Jaffé,^{5,6} Nancy A. Moran^{2*}

2017 © The Authors, some rights reserved exclusive licensee American Association for the Advancement of Science. Distribute under a Creative Commons license.



Effet de l'élimination du microbiote sur la survie des abeilles infectées par *Serratia*



RESEARCH ARTICLE

Antibiotic exposure perturbs the gut microbiota and elevates mortality in honeybees

Kasie Raymann*, Zack Shaffer, Nancy A. Moran

Effet de l'élimination du microbiote sur la survie des abeilles infectées par *Serratia*

A Antibiotique = Tétracycline

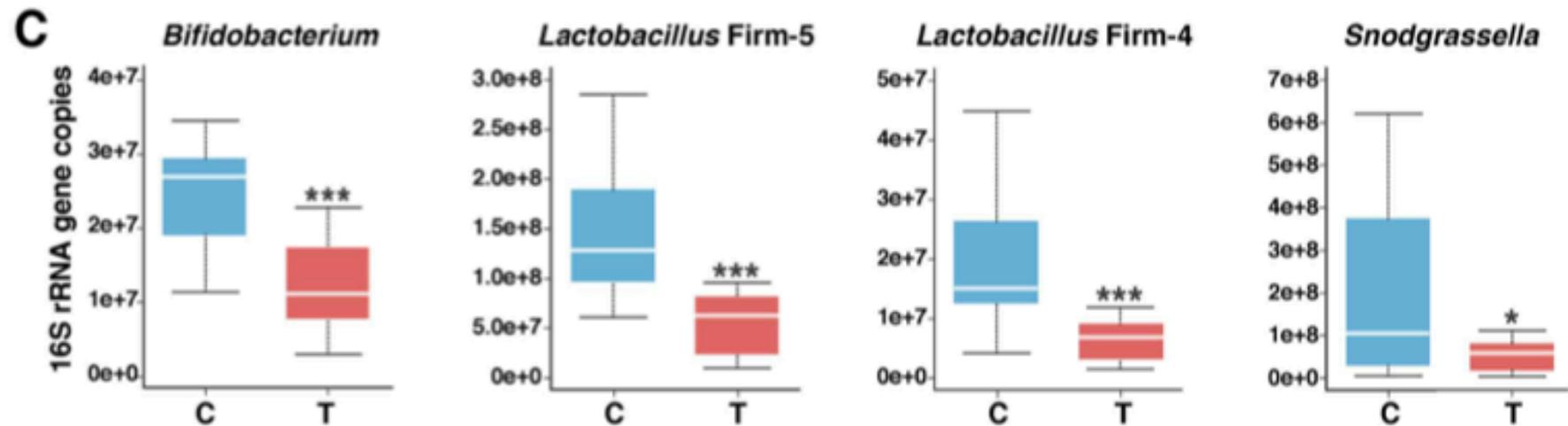
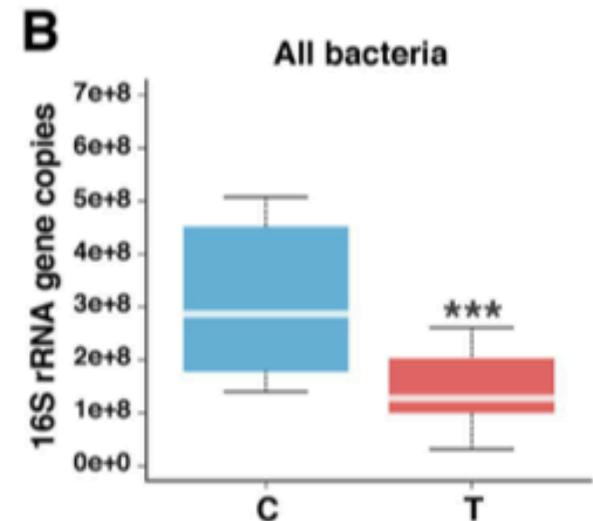
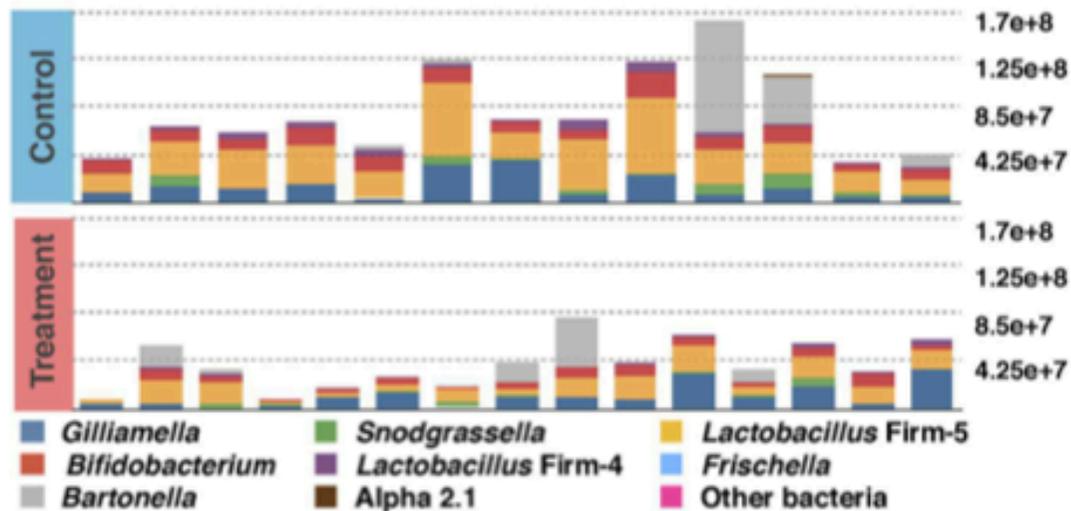
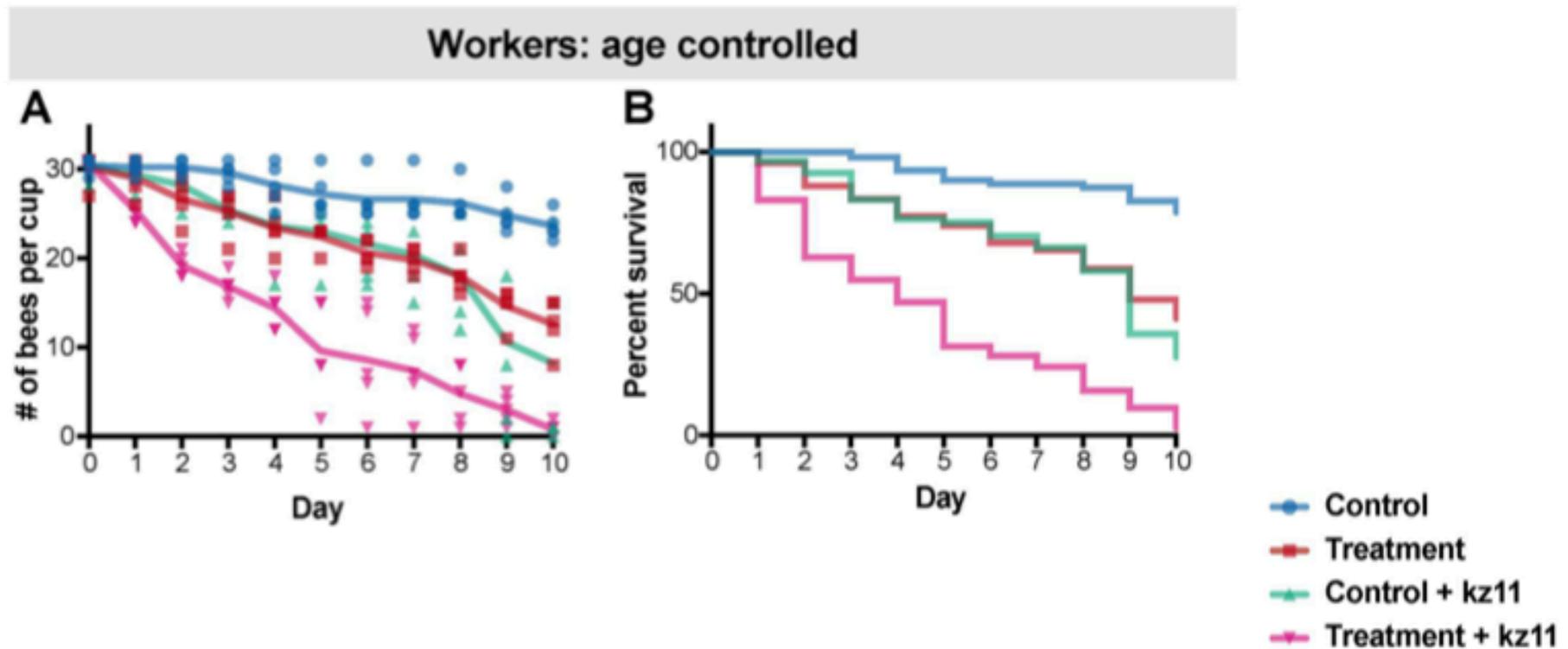


Fig 1. Changes in the honeybee gut microbiota after 5 d of tetracycline treatment (Day 0 post-treatment). **A)** Stacked column graph showing the abundance of bee gut bacterial species in control bees ($n = 14$) and treatment bees ($n = 15$). Abundance of the bee gut bacterial species was estimated by correcting for absolute abundance (estimated by qPCR) and taking into account rRNA operon number per genome (S1 Table). **B)** Boxplot of total bacterial

Effet de l'élimination du microbiote sur la survie des abeilles infectées par *Serratia*

"Challenge" abeilles par souche *Serratia*





Honeybee gut microbiota promotes host weight gain via bacterial metabolism and hormonal signaling

Hao Zheng (郑浩)^{a,1}, J. Elijah Powell^a, Margaret I. Steele^a, Carsten Dietrich^b, and Nancy A. Moran^{a,1}

^aDepartment of Integrative Biology, University of Texas at Austin, Austin, TX 78712; and ^bStrategy and Innovation Technology Center, Siemens Healthcare GmbH, 91052 Erlangen, Germany

Edited by Joan E. Strassmann, Washington University in St. Louis, St. Louis, MO, and approved March 24, 2017 (received for review February 1, 2017)

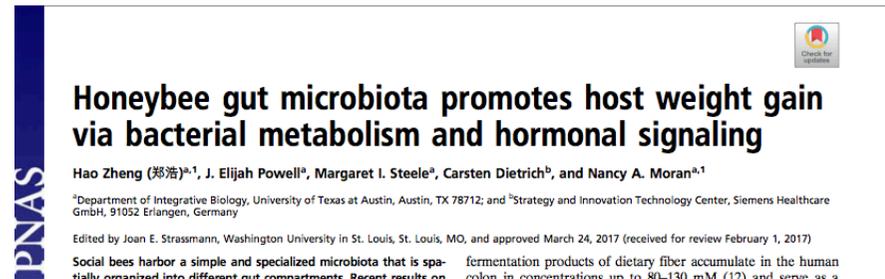
Social bees harbor a simple and specialized microbiota that is spatially organized into different gut compartments. Recent results on fermentation products of dietary fiber accumulate in the human colon in concentrations up to 80–130 mM (12) and serve as a

Métabolisme

Microbiote intestinal induit prise de poids globale et intestin chez abeille à miel

- Augmentation concentration vitellogénine
- Signalisation dépendante de l'insuline
- Amélioration de la réponse gustative

Métabolisme



Métabolisme microbien intestinal réduit pH intestinal et potentiel redox par production lipides à chaînes courtes (SCFA)
Bactéries proches paroi intestinale forment gradient O₂
Profil SCFA assuré par espèces fermentatives dominantes
Analyse métabolomique suggère que des bactéries du microbiote dégradent polymères végétaux du pollen et métabolites libérés importants comme source de nutriments

Microbiote intestinal affecte croissance, signalisation hormonale comportement et conditions physicochimiques intestin insecte

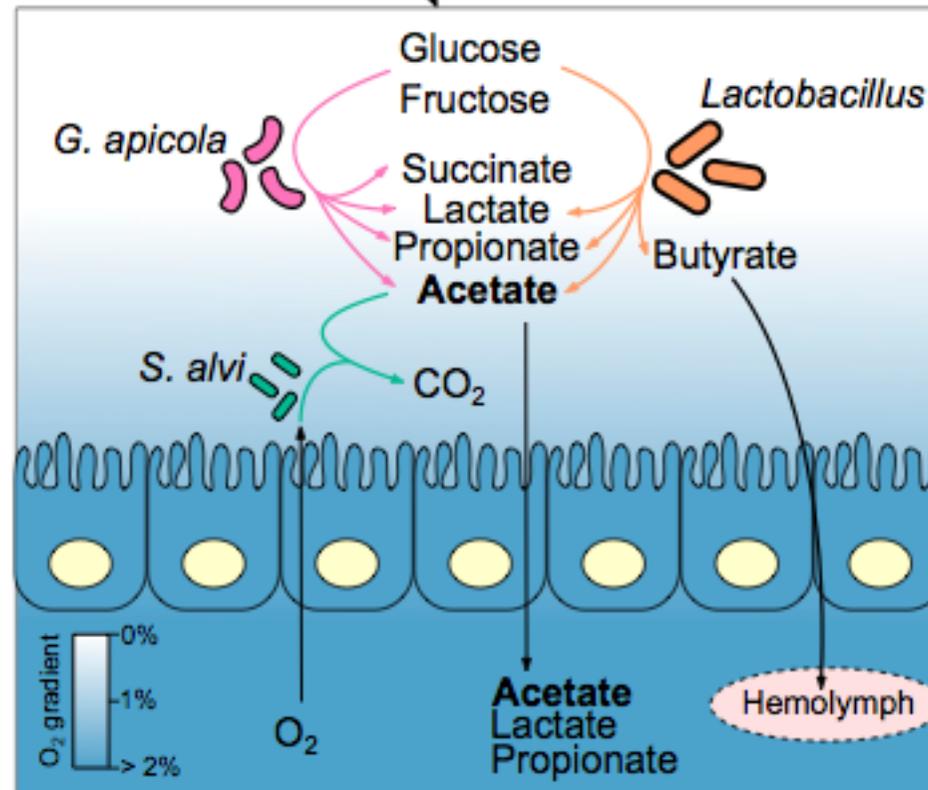
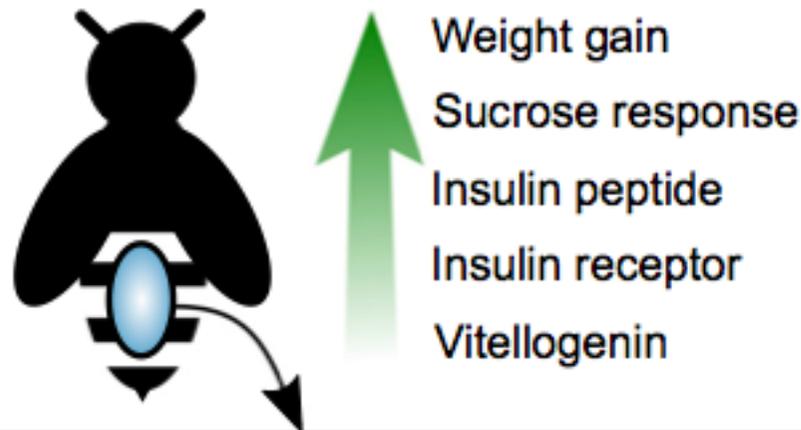
Similaire à ce qui est observé chez d'autres animaux...
(Zheng et coll. 2017. PNAS)

Métabolisme

Gilliamalla apicola

Lactobacillus

Snodgrassella alvi



Zheng et coll. 2017. PNAS

Fig. 4. Graphical summary of the main results. The conventional gut microbiota, including the major sugar fermenters *G. apicola* and *Lactobacillus* sp.,

ROYAL SOCIETY
OPEN SCIENCE

rsos.royalsocietypublishing.org

Research



Cite this article: Kwong WK, Mancenido AL, Moran NA. 2017 Immune system stimulation by the native gut microbiota of honey bees. *R. Soc. open sci.* **4**: 170003.
<http://dx.doi.org/10.1098/rsos.170003>

Immune system stimulation by the native gut microbiota of honey bees

Waldan K. Kwong^{1,2,†}, Amanda L. Mancenido^{1,†} and
Nancy A. Moran¹

¹Department of Integrative Biology, University of Texas at Austin, Austin, TX, USA

²Department of Ecology and Evolutionary Biology, Yale University, New Haven, CT, USA

WKK, 0000-0001-7999-3217

Stimulation des réponses immunitaires de l'abeille par le microbiote

Microbiote largement éliminé par prélèvement stérile des nymphes et incubation en milieu nutritif stérile jusqu'à stade adulte

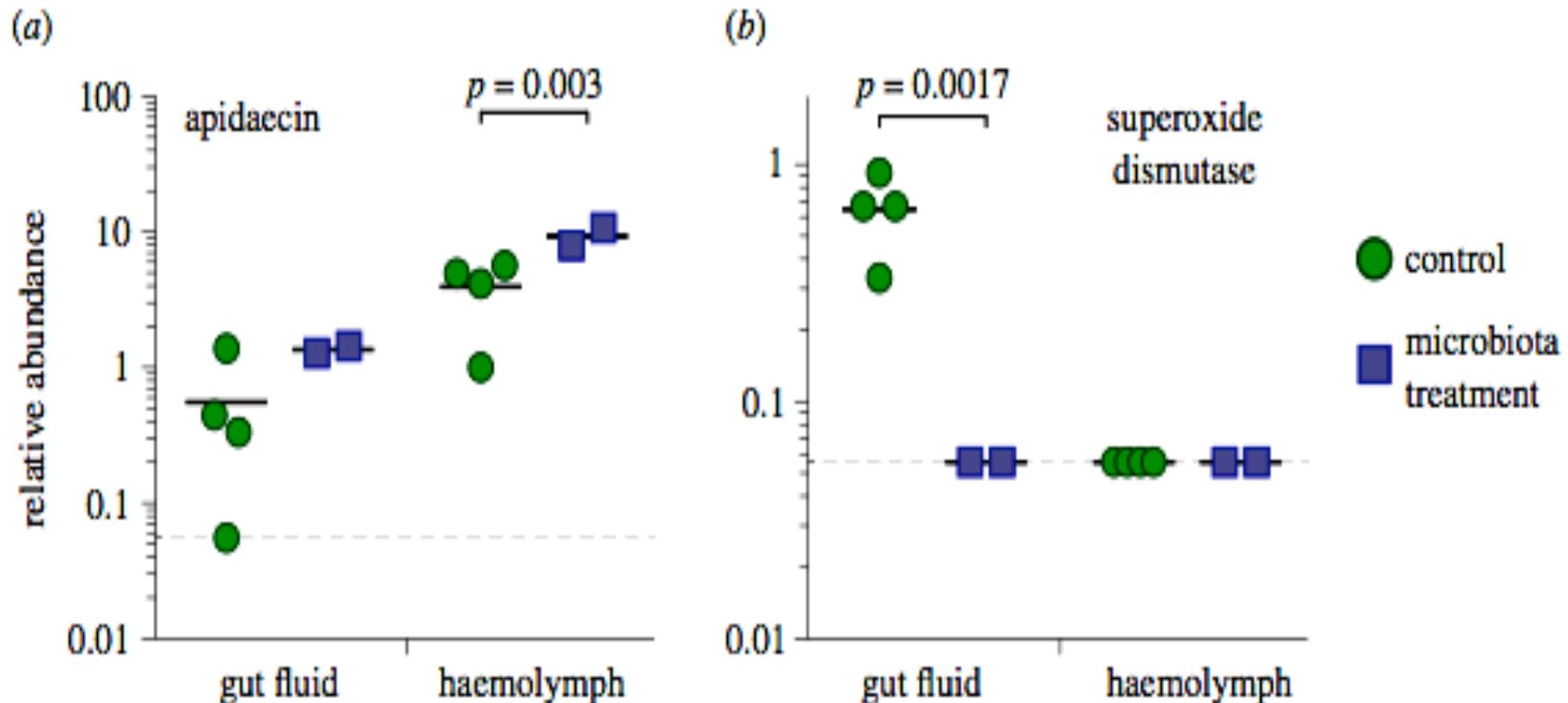


Figure 2. The gut microbiota alters levels of immunity-related proteins in the gut and in the haemolymph. Relative abundances are reported as peptide spectrum matches per microlitre of sample (gut fluid or haemolymph). Solid lines denote means; dashed line indicates

Stimulation des réponses immunitaires de l'abeille par le microbiote

Abeilles sans microbiote
 "Challenge" par *E. coli*
 suivant ou non
 colonisation par
S. alvi ou *G. apicola*

Courbes de survie

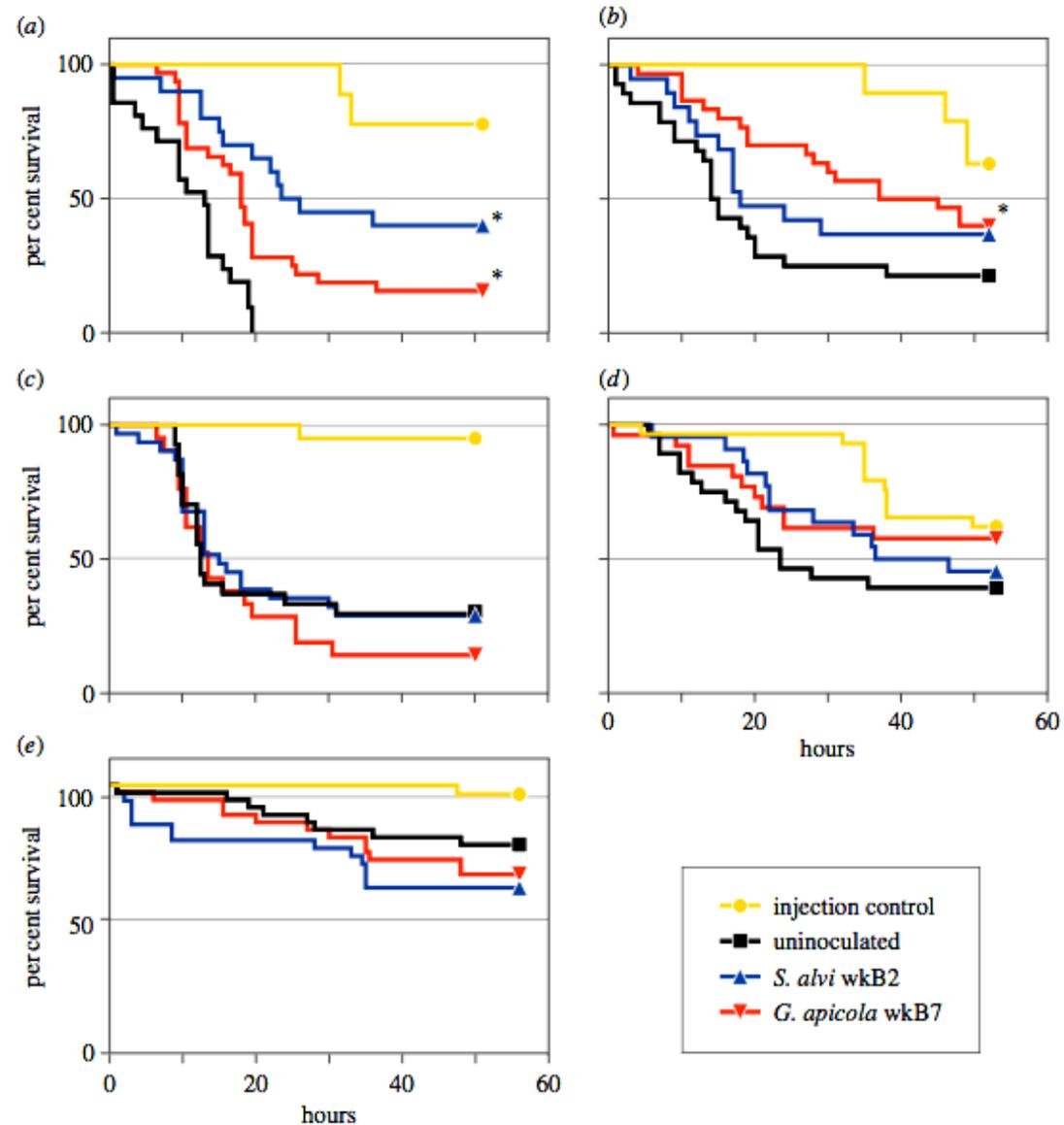
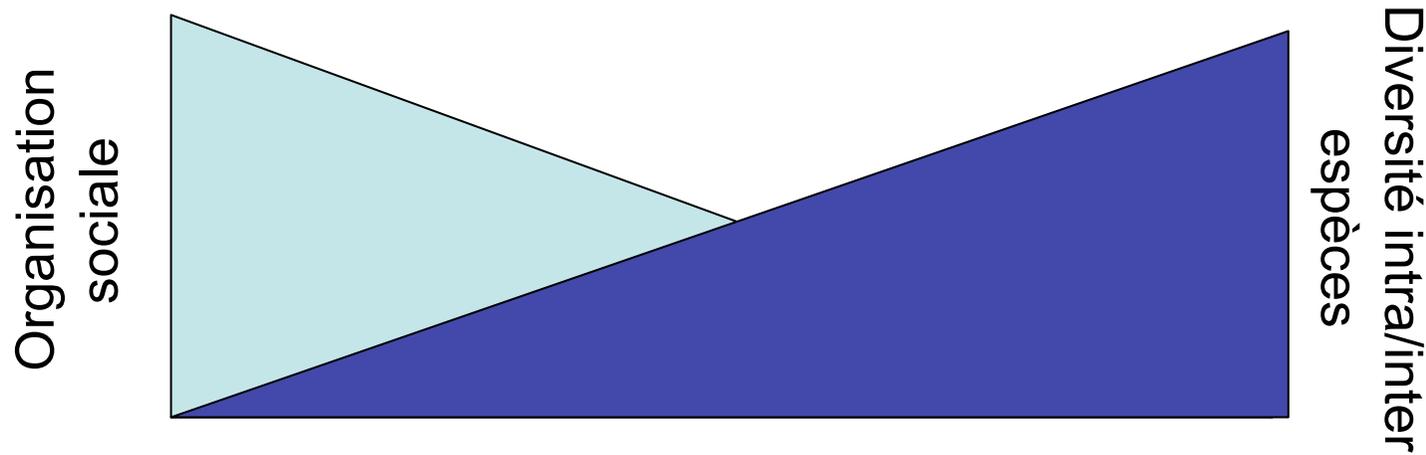


Figure 3. Survival rates of uninoculated and inoculated bees after *E. coli* infection. Bees were each injected with 1 μ l of *E. coli* culture with 10^3 cells (a, b), 10^4 cells (c, d) or 10^4 cells after 6 h of starvation (e). Bees inoculated with *S. alvi* wkB2 or *G. apicola* wkB7 exhibited

Conclusions/perspectives



Rôle altérations microbiote dans dégradation santé des abeilles ?

Solutions préventives/thérapeutiques ?

= Stimulation protection contre facteurs de l'étiollement

Métabolisme, résistance antiinfectieuse/parasitaire, biodégradation pesticides

Le monde des moustiques

Moustiques (Culicidae) = 3500 espèces, distribution planétaire
(Cumberland S. 2009. Bull WHO)

Plupart espèces décrites = genres *Aedes*, *Anopheles* et *Culex*

Vecteurs virus pathogènes: Dengue, Chikungunya, Fièvre jaune, Encéphalite japonaise...

Parasitoses: filarioses (*Wuchereria bancrofti*/filiaire lymphatique) ou *Onchocerca volvulus* (Onchocercose), *Plasmodium* (Paludisme)

Peu de ces maladies bénéficient d'un vaccin, prévention repose essentiellement sur lutte anti-vectorielle

Le monde des moustiques



AEDES ALBOPICTUS

Surnommé moustique-tigre, il se reconnaît à la ligne blanche au centre du thorax.

Maladies véhiculées : dengue, Zika, chikungunya, fièvre jaune, filariose et autres maladies parasitaires à nématodes.

Répartition : sur les cinq continents.

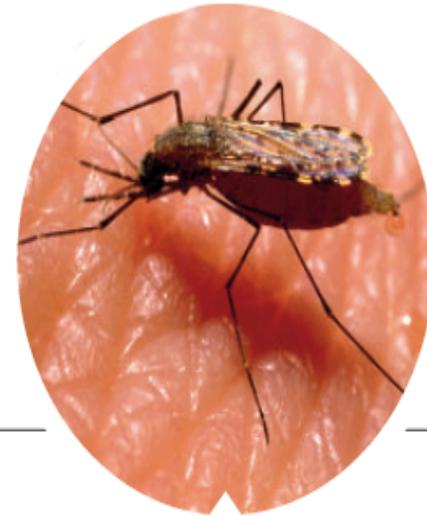


AEDES AEGYPTI

Parfois confondu avec *Aedes albopictus*, il s'en distingue par un motif en forme de lyre sur le thorax.

Maladies véhiculées : dengue, Zika, chikungunya, fièvre jaune.

Répartition : régions tropicales, Afrique.



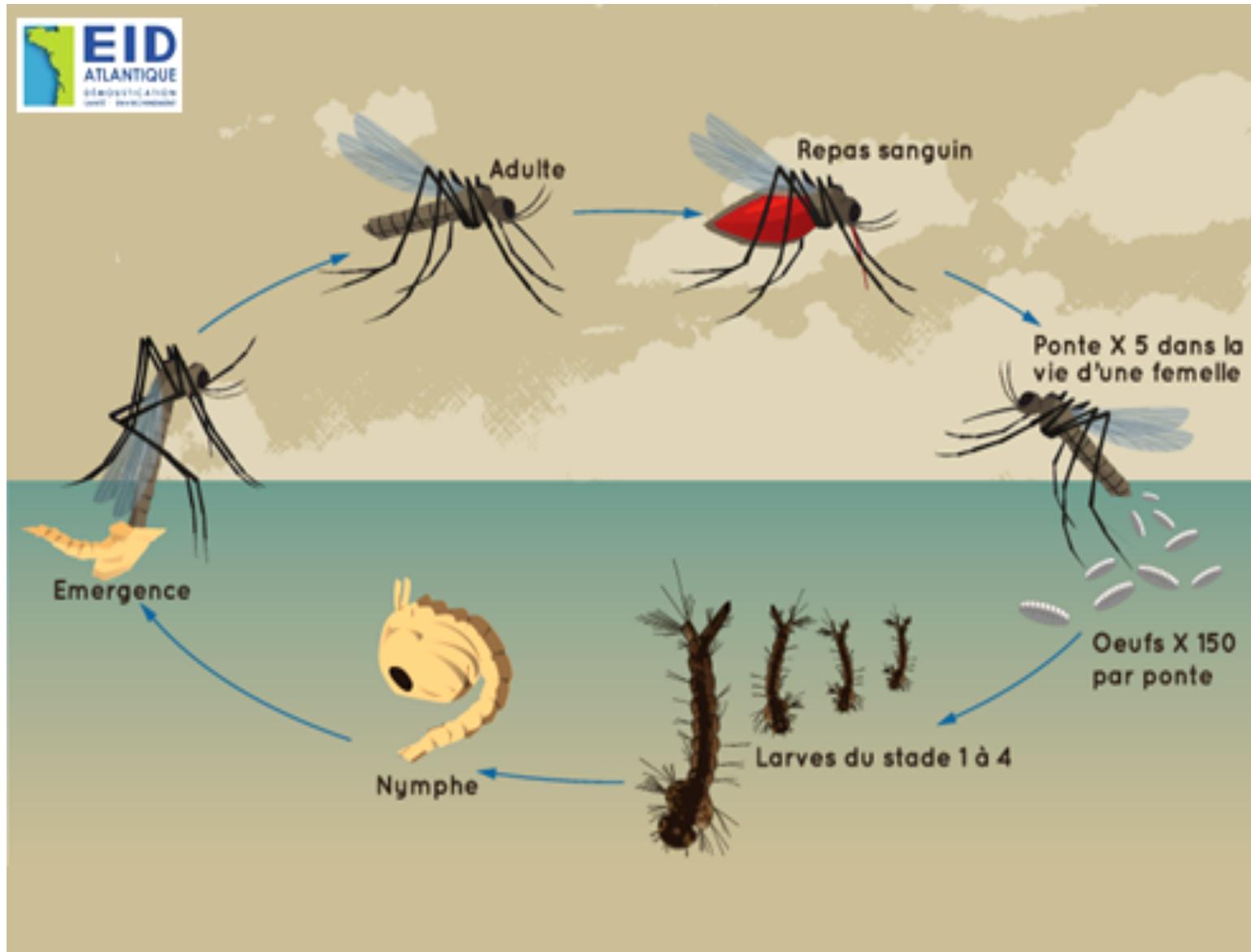
ANOPHELES GAMBIAE

Principal représentant d'une dizaine d'espèces qui ne sont pas distinguables les unes des autres. Le genre *Anopheles* compte 430 espèces.

Maladie véhiculée : paludisme.

Répartition : Afrique, Madagascar mais la distribution du genre est mondiale.

Cycle de développement du moustique



Le monde des moustiques: symbiose primaire

Nouvelles stratégies nécessaires: manipulation vecteurs et leurs partenaires bactériens (Ricci et coll. 2012. Curr Opin Microbiol)

Meilleur exemple = symbiose primaire = endosymbiote type **Wolbachia** (Calvitti et coll. 2012. Parasites & Vectors) = impact sur développement de certaines espèces de moustiques en raccourcissant espérance de vie et en agissant indirectement sur compétence pour portage des pathogènes, affectant profondément capacité transmission maladies (McMeriman et coll. 2009. Science; Moreira et coll. 2009. Cell)

Symbiotes primaires: famille des γ -protéobactéries

Endosymbiotes à génome dégénéré comme *Wolbachia*,
Spiroplasma, *Rickettsia*, transmission verticale
Symbiose ancienne: 30-270 millions années
(Oliver et coll. 2003. PNAS; Moran et coll. 2005.
Appl.Environment.Microbiol; Scarborough et coll. 2005. Science)

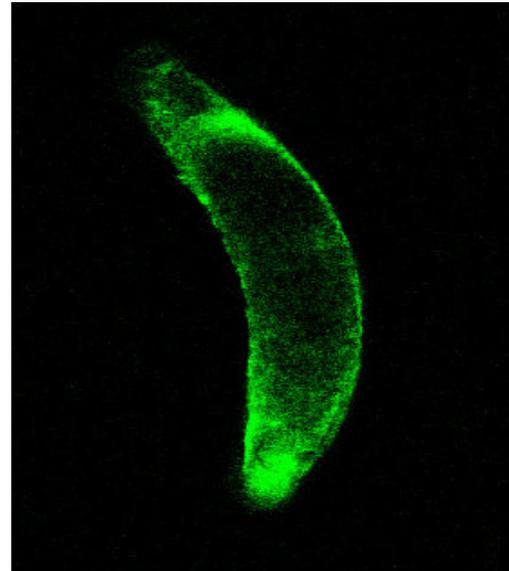
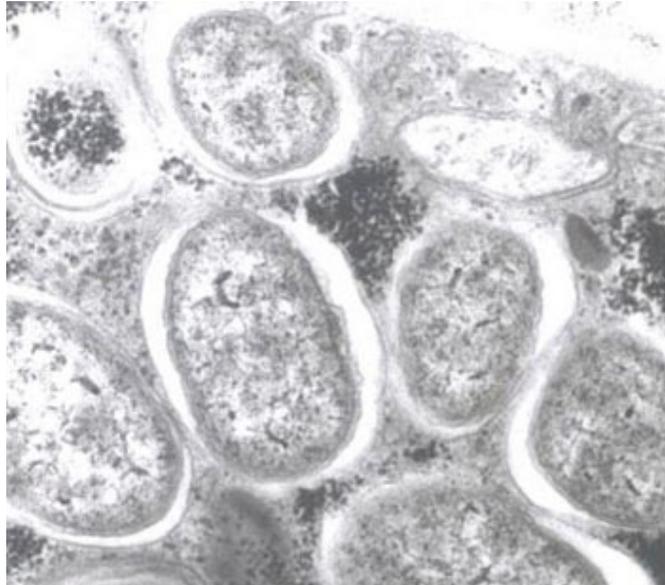
Peuvent manipuler reproduction hôte:

Souvent véritables modifications du mode de reproduction:

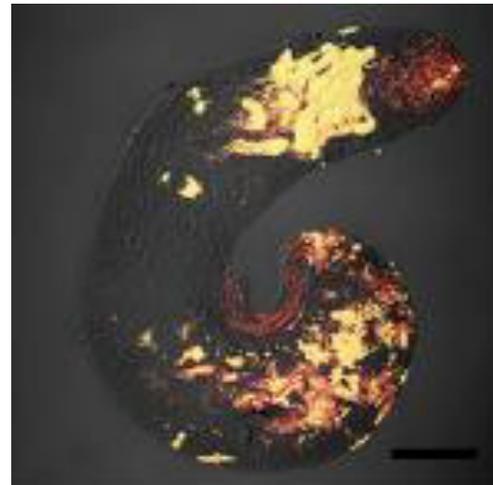
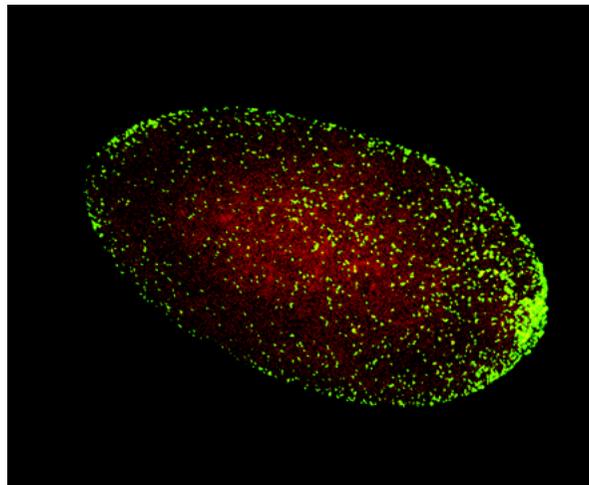
- Parthénogénèse
- Mort sélective des embryons mâles (« male/son killing »)
- Féminisation des mâles génétiques
- **Incompatibilité cytoplasmique (CI) = incompatibilité de reproduction**

(Stouthamer R et coll. 1999. Ann.Rev.Microbiol., 53:71-102
McGraw EA & O'Neill SL. 2004. Curr Opin Microbiol)

Symbiotes primaires appartiennent surtout à famille des γ -protéobactéries



GFP-*Wolbachia*
Embryon de
sauterelle



GFP-*Wolbachia*
Testicules
embryon de drosophile

Bactéries du genre *Wolbachia* : prévalence

Wolbachia retrouvé:

Chez nématodes (filaires)

Chez arachnidées

Chez crustacés

Chez insectes (60 % de l'ensemble des espèces connues !)

Wolbachia infecte de nombreuses espèces de moustiques

Mais curieusement pas les « grandes espèces vectrices » de maladies transmissibles à l'homme comme *Aedes aegypti*.

Symbiose secondaire: microbiote intestinal

Symbiose secondaire apparue plus tardivement dont symbiotes transmis horizontalement à partir environnement

Microbiote moustique, essentiellement intestinal (Minard G et coll. 2013. Vectors & Parasites)

Plupart des études demeurent descriptives de diversité de ces microbiotes et de leur variation en fonction facteurs spécifiques, âge/développement et environnement/nutrition

Deux champs récemment développés:
Impact développemental et fonctionnel

Seules études mécanistiques permettront de progresser dans les méthodes de biocontrôle populations moustiques vecteurs

Diversité et variation microbiote des moustiques

Méthodes classiques (culture) et moléculaires (essentiellement métataxonomique 16S)

Dominance phylum "Protéobactéries" (Rani et coll. 2009. BMC Microbiol; Gusmao et coll. 2010 Acta trop; Dinparast et coll. 2011. PLoS One, Zouache et coll. 2011. FEMS Microbiol Ecol; Boissière et coll. 2012. PLoS Pathogens)

Essentiellement gamma-protéobactéries, de 41 % pour *C. quinquefasciatus* à 86 % pour *A. stephensi*

Diversité des genres reflète largement diversité habitats et préférences écologiques des différentes espèces de moustiques étudiées

Diversité et variation microbiote des moustiques

Majorité espèces Anophèles et Culex = piqueurs nocturnes
contrairement à plusieurs espèces Aedes = piqueurs diurnes

Anophèles vivent en eaux claires, exposés au soleil
Culex et Aedes vivent en eau trouble/boueuse avec grande
quantité matière organique

Diversité aussi dépendante sexe: mâle et femelle ont
comportements différents, donc sont exposés à des
environnements différents

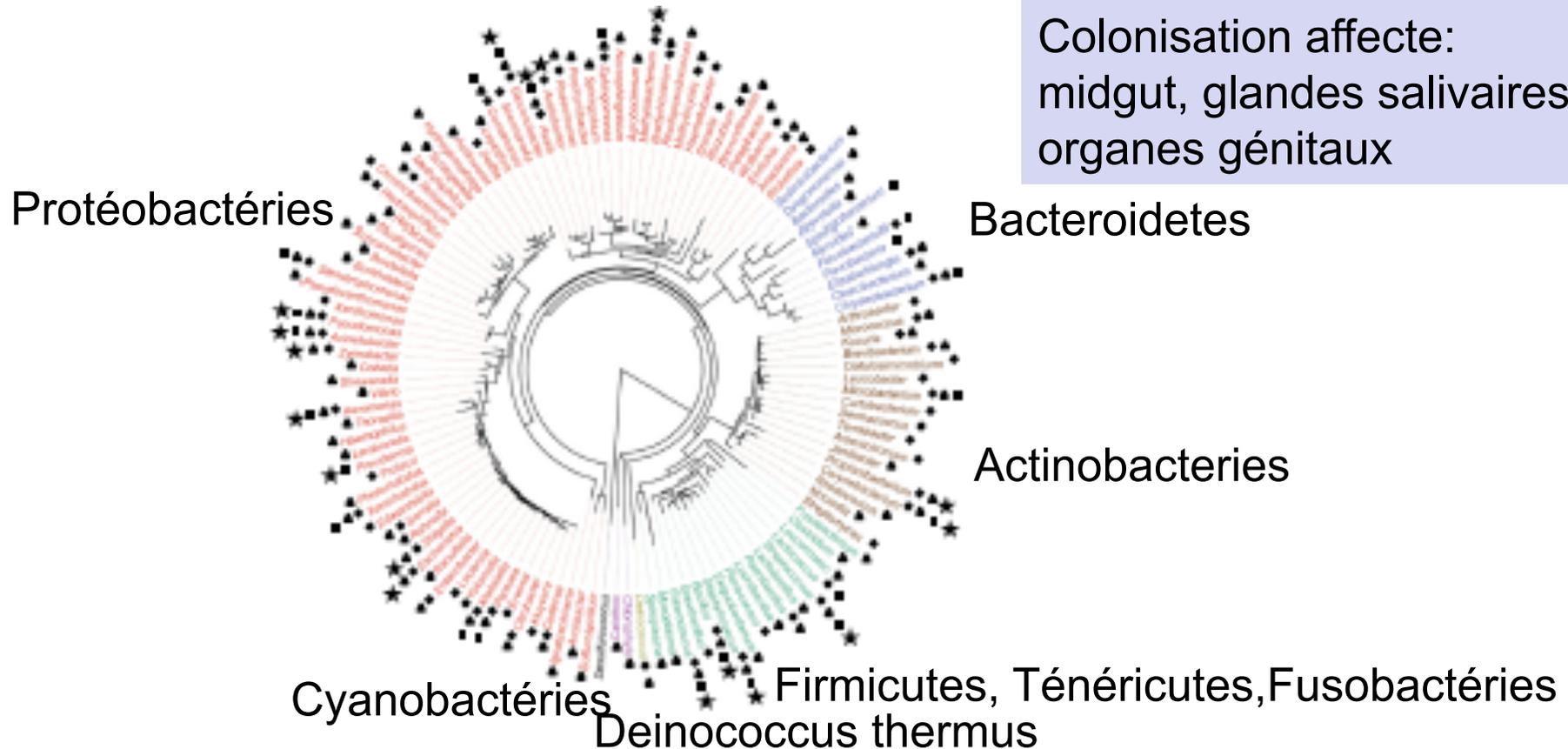
Moitié de la diversité expliquée par sexe (Zouache et coll.
2011. FEMS Microbiol Ecol)

Genres bactériens identifiés
chez Cullicidés
Métataxonomie 16S
Compilation/métaanalyse

Diversity and function of bacterial microbiota in
the mosquito holobiont

Guillaume Minard, Patrick Mavingui* and Claire Valiente Moro*

Colonisation affecte:
midgut, glandes salivaires,
organes génitaux



0.2

- + Anopheles mosquitoes [An. argyri, An. albopictus, An. borealis, An. tritaeniorhynchus]
- ▲ Anophelinae mosquitoes [An. albimanus, An. arabicus, An. castor, An. foveolatus, An. gambiae, An. maculipennis, An. stephensi]
- Culex mosquitoes [Cx. quinquefasciatus, Cx. pipiens]
- ★ Aedes mosquitoes [Ae. albopictus, Ae. tritaeniorhynchus]

Variabilité microbiote en fonction stade développement

Quatre stades: oeuf, larve, nymphe = environnement aquatique
moustique adulte = environnement terrestre

Différence gîte explique variation microbiote fonction stade développement

Stade larvaire: consomment bactéries comme du plancton = première étape colonisation ajoutant à possible héritage transmission verticale (Wolbachia)

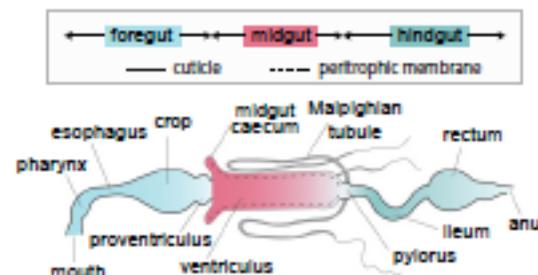
Midgut larves contient beaucoup de cyanobactéries photosynthétiques acquises des sites d'élevage, pas retrouvées chez adultes
= 40% du microbiote chez *A. gambiae* (Wang et coll. 2011. PLoS One)

Proportion et nombre de phyla se modifie drastiquement **entre stade adulte**

immature et mature: simplification du microbiote réduit à : Acinetobacter, Bacillus, Enterobacter, Staphylococcus, Pseudomonas Serratia et Chryseobacterium chez *Anopheles stephensi* (Dinparast-Djadid N. 2011. PLoS One)

Appauvrissement serait du à maturation **matrice péritrophique** à surface muqueuse) (MPM1 / MPM2)

(Moll RM et coll. 2001. Mol Entomol



Variabilité microbiote du moustique fonction niche écologique

Microbiote moustiques élevés au laboratoire beaucoup moins divers (culture et métataxonomique 16S) que microbiote de moustiques capturés dans la nature

A. stephensi (culture): males = 15 / 27

femelles = 7/36 (Rani et coll. 2007. BMC Microbiol)

A. gambiae (16S): 45/155 (Boissière et coll. 2012. PLoS Pathogens)

Paramètres environnementaux lourds dans diversité du microbiote comparés au régime nutritionnel et au stade de développement

Paramètres environnementaux:

biotiques = compétition dans la chaîne alimentaire

abiotiques = température, humidité

Nécessité d'études supplémentaires afin de mieux résoudre influence des paramètres environnementaux

Variabilité microbiote moustique fonction niche écologique

Acinetobacter = genre bactérien plus fréquemment associé avec différentes espèces moustiques

Acinetobacter déjà présent dans sites reproduction et dans sources de nourriture des moustiques adultes (Minard G et coll. 2013. FEMS Microbiol Ecol)

Asaia et Pantoea présents dans nectar fleurs aussi étroitement associés microbiote diverses espèces moustiques (Vallente-Moto et coll. 2013. BMC Microbiol)

Synergie et antagonisme observés entre espèces colonisatrices (Minard et coll. 2013. Parasites & Vectors)

Impact du microbiote sur biologie du moustique (1): Nutrition

Techniques disponibles encore loin de permettre identification et analyse flux métaboliques et énergétiques échelle interaction entre un organisme de la taille d'un insecte et une flore complexe quantitativement limitée

Certaines propriétés apportées par symbiotes primaires (endosymbiotes) ont cependant été déchiffrées = Buchnera et insectes Aphides (Douglas AE. 1998. Ann Rev Entomol)

Essentiel des travaux chez le moustique = rôle symbiotes secondaires et peu sur symbiotes primaires (endosymbiotes)

Impact du microbiote sur la biologie du moustique (1): nutrition

Fonction nutritionnelle microbiote intestinal fortement considérée mais pas nécessairement définitivement prouvée chez le moustique

Serratia et *Enterobacter* produisent une hémolysine = pourraient jouer rôle dans digestion sang chez moustiques hématophages (De Gaio et coll. 2011. Parasites & Vectors)

Acinetobacter baumannii et *A. johnsonii* pourraient digérer sang et nectars chez *A. albopictus* (Minard G et coll. 2013. FEMS Microbiol Ecol)

Contrairement souches environnementales, souches *Acinetobacter* moustiques métabolisent acides aminés comme alpha-céto acide valérique et glycine très présents dans sang et 4-hydroxy acide benzoïque et xylose très présents dans sève des plantes

Asaia bogorensis isolé de *A. stephensi* = prototrophique pour synthèse vitamines. Source pour moustique ? (Crotti et coll. 2011. App Environment Microbiol)

Pseudomonas aeruginosa augmente croissance larves *C. quinquefasciatus* (Peck GW & Walton WE. 2006. J Med Entomol)

Impact du microbiote sur la biologie du moustique (1): nutrition

Ne pas oublier !

Bactéries présentes dans environnement moustique peuvent influencer son comportement, y compris alimentaire

Certaines espèces produisant métabolites volatils odoriférants = osmoattractants. Composition microbiote cutané affecte degré attractivité moustiques pour humains (Verhulst et coll. 2010. PLoS One)

Corynebacterium minutissimum produit composés volatils (acide lactique, butyrate de butyl) attirant *A. gambiae* à la peau (Possunamy et coll. 2011. PLoS One)

Possibilité pour certaines espèces microbiote insectes, éventuellement transmises verticalement, dégrader insecticides = Fenithrothion (insecticide organophosphoré), Burkholderia et punaise de la canne à sucre (Kikuchi et coll. 2011. ISME J)

Impact du microbiote sur la biologie du moustique (2): reproduction

Wolbachia peut contrôler accouplement moustiques en induisant incompatibilité cytoplasmique (CI)

CI empêche mâles infectés de produire progéniture viable après accouplement avec femelle non infectée ou une femelle infectée avec souche de Wolbachia incompatible (Correa CC & Ballard JW. 2014. J Invertebr Pathol)

Autres genres bactériens comme Staphylococcus et Bacillus pourraient aussi affecter fertilité de *C. pipiens*

Mécanismes à déterminer (Fouda et coll. 2001. J Egypt Soc Parasitol)

Impact du microbiote sur la biologie du moustique (3): compétence et protection

Wolbachia peut réduire voire inhiber réplication et transmission pathogènes dans plusieurs espèces de moustiques (Mousson I et coll. 2012. PLoS Neglect Trop Dis)

Surtout observé quand moustiques trans-infectés avec souches Wolbachia isolées autres espèces de moustiques

Le cas chez *A. aegyptii* et Anophèles qui ne sont pas naturellement infectés par Wolbachia

Dans ces situations qui demeurent artificielles, deux phénomènes observés:

Diminution de espérance de vie moustiques trans-infectés

Diminution charge en pathogènes viraux (Dengue, Chikungunya) et parasites (Plasmodium et filaires) (Lambrecht et coll. 2009.

Proc Biol Sci; Kambris et coll. 2010. PLoS Pathogens)

Impact du microbiote sur la biologie du moustique (4): développement

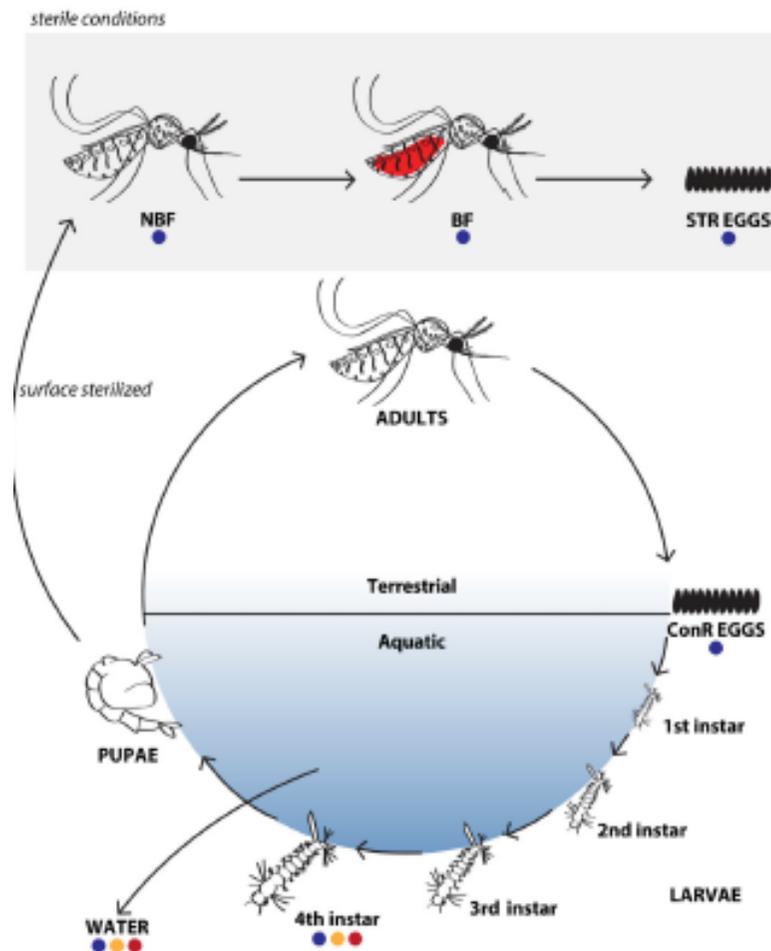
Observations initiales ont montré que déplétion expérimentale par antibiotiques souche bactérienne genre *Asaia* dominante chez larves *A stephensi* entraîne net retard de maturation de larves parallèlement à chute massive charge en *Asaia* (Chouaia et coll. 2012. BMC Microbiol)

Hypothèse: rôle du microbiote dans le développement du moustique ?

Mosquitoes rely on their gut microbiota for development

KERRI L. COON, KEVIN J. VOGEL, MARK R. BROWN and MICHAEL R. STRAND

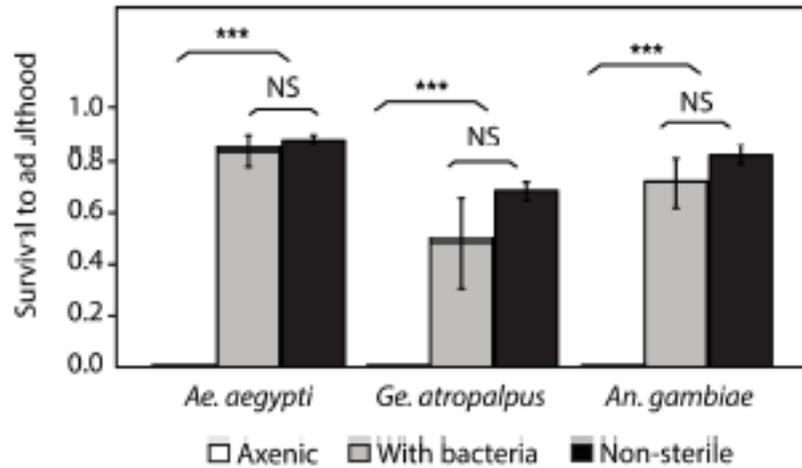
Department of Entomology, The University of Georgia, 120 Cedar Street, 420 Biological Sciences, Athens, GA 30602, USA



Trois principaux genres de Culicidés:
 Non-autogènes (femelle besoin repas sanguin pour pondre)
 = Aedes (*A. aegyptii*), Anopheles (*A. gambiae*)
 Autogènes (pas besoin de repas sanguin)
 = *Georgecraigius* (*G. atropalpus*)
 Nécessitent tous un microbiote intestinal pour se développer au delà du premier stade larvaire
 4-5 espèces et *E. coli* peuvent être transmises d'oeuf à larve et jouer un rôle dans son développement

Mosquitoes rely on their gut microbiota for development

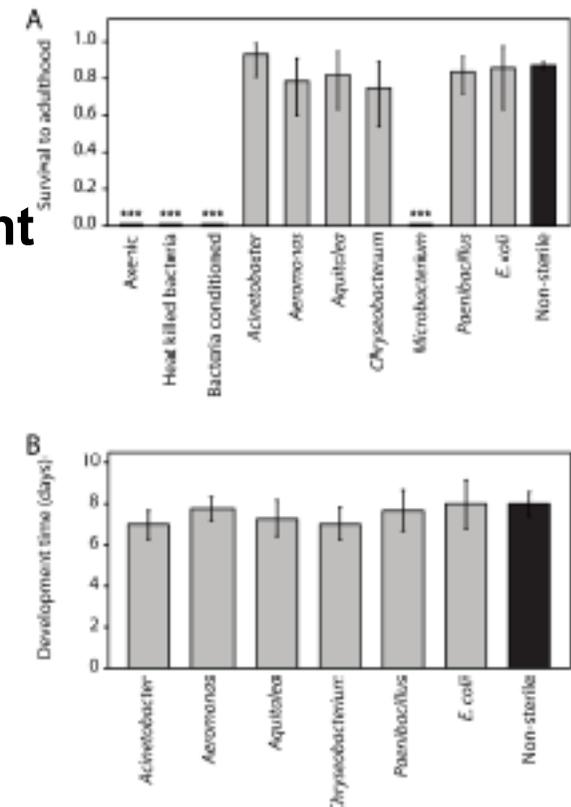
KERRI L. COON, KEVIN J. VOGEL, MARK R. BROWN and MICHAEL R. STRAND
 Department of Entomology, The University of Georgia, 120 Cedar Street, 420 Biological Sciences, Athens, GA 30602, USA



Moustiques axéniques incapables de développement

- Axénique/diète stérile riche
- Gnotoxénique (une espèce du microbiote)/diète stérile riche
- Milieu non stérile/diète stérile riche

Survie jusqu'au stade adulte



Durée du développement larvaire

Impact du microbiote sur la biologie du moustique (4): développement

Plusieurs espèces de moustiques incluant *A. aegyptii* ne se développent pas au delà du premier stade larvaire - même si nourris avec alimentation complète - sans microbiote intestinal

Plusieurs espèces bactériennes dont *E. coli* rétablissent développement normal larves axéniques jusqu'au stade adulte

Mécanismes moléculaires à déchiffrer:

Bacteria-mediated hypoxia functions as a signal for mosquito development

Kerri L. Coon^a, Luca Valzania^a, David A. McKinney^a, Kevin J. Vogel^a, Mark R. Brown^a, and Michael R. Strand^{a,1}

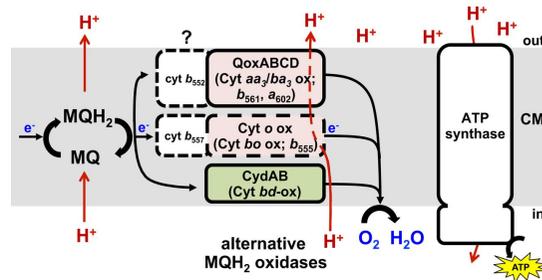
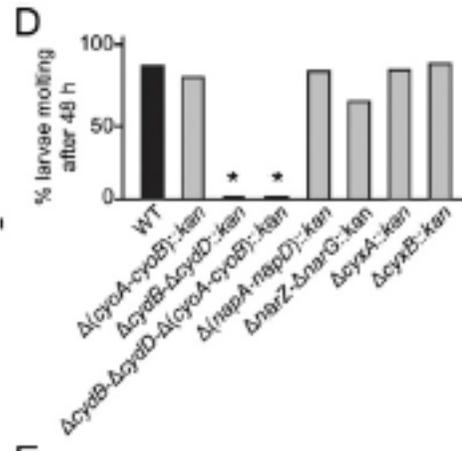
^aDepartment of Entomology, The University of Georgia, Athens, GA 30602

Edited by Alexander S. Raikhel, University of California, Riverside, CA, and approved May 24, 2017 (received for review February 21, 2017)

Mosquitoes host communities of microbes in their digestive tract that consist primarily of bacteria. We previously reported that several mosquito species, including *Aedes aegypti*, do not develop beyond

Taken together, several mosquito species die as first instars when fed a nutritionally complete diet in the absence of a gut microbiota but develop into adults if living bacteria are present. Prior findings

Hypoxie créée par microbiote intestinal = signal pour croissance et développement de la larve du moustique



Chaîne respiratoire *E. coli*

Criblage banque mutants *E. coli* = cytochrome haute affinité (cytochrome bd oxidase) Élément essentiel rétablissant maturation larves *E. coli* = aéro-anaérobie Mutation cytochrome bd oxidase entraîne blocage respiration aérobie, donc absence consommation d'oxygène ne permettant pas de réduire niveau d'O₂ intestinal à <5%. Hypoxie indispensable à croissance larve et mue en présence d'ecdysone

A. aegyptii: mutants d'*E. coli* affectant croissance et mue des larves

Impact du microbiote sur la biologie du moustique (4) Développement

SCIENCE ADVANCES | RESEARCH ARTICLE

MICROBIAL ECOLOGY

Carryover effects of larval exposure to different environmental bacteria drive adult trait variation in a mosquito vector

Laura B. Dickson,^{1*} Davy Jolle,^{1,2,3} Guillaume Minard,^{4,5,6} Isabelle Moltini-Conclois,¹ Stevann Volant,⁷ Amine Ghoulane,^{7,8} Christiane Bouchier,⁸ Diego Ayala,^{2,3} Christophe Paupy,^{2,3} Claire Valiente Moro,^{4,5} Louis Lambrechts^{1*}



Merci

