



Offre de thèse/ PhD offer

Développement de différentes méthodes innovantes de sexage pour l'application de la Technique de l'Insecte Stérile chez *Aedes albopictus* (projet ERC REVOLINC)

Development of different sexing innovative methods for setting up the Sterile Insect Technique in *Aedes albopictus* (ERC REVOLINC project)

Mots-clés : Sexage, élevage de masse, Technique de l'Insecte Stérile (TIS), lutte antivectorielle, *Aedes albopictus*

Key words: Sexing, mass rearing, Sterile insect technique (SIT), Vector control, *Aedes albopictus*

Domaine: Innovation, Lutte anti-vectorielle, Lutte génétique

Lien http du projet dans lequel s'inscrit cette l'offre de thèse:

<https://www.researchgate.net/project/Revolutionizing-Insect-Control-Revolinc>

Année universitaire : 2018-2021

Date limite de candidature : 30 Avril 2018

Date de début de la thèse: Juillet 2018

Ecole Doctorale : GAIA

Etablissement d'inscription du/de la doctorant(e) : Université de Montpellier

Spécialité : Écologie, Evolution, Ressources Génétiques, Paléobiologie

Unité de recherche 1 : UMR CIRAD-INRA ASTRE (Animal, Santé, Territoires, Risques et Ecosystèmes) <https://umr-astre.cirad.fr/>

Unité de recherche 2 : CNRS UPR9022, INSERM U963, Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

Unité de recherche 3 : Department of Biological Sciences, University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada

Unité de recherche 4 : Insect Pest Control, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, Austria

Type de financement : Financement ERC REVOLINC (Jérémy Bouyer)

Etat du financement : Obtenu

Précisions sur le financement: Bourse de 3 ans

Directeur de thèse : BOUYER Jérémy

Tel : +436603624076

Courriel: jeremy.bouyer@cirad.fr

HDR : oui

Co-Directeur de thèse : BALDET Thierry

Tel: 33 (0)4 67 59 39 96

Courriel: thierry.baldet@cirad.fr

Encadrant : SERVAN DE ALMEIDA Renata

Tel : +33 (0)4 67 59 37 05

Courriel: renata.almeida@cirad.fr

Autres experts mobilisés et partenaires du projet (participation au Comité de Thèse) :

- Dr. Eric Marois, Université de Strasbourg, CNRS UPR9022, INSERM U963, Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Strasbourg, France (e.marois@unistra.fr)

- Dr. Steve Whyard, Department of Biological Sciences, University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada (Steve.Whyard@umanitoba.ca)

Pour postuler à cette offre

Envoyer par email avant le 30 avril 2018 une Lettre de motivation + un CV + un relevés de notes de Master + Lettres de recommandation en spécifiant dans le sujet du courriel « *candidature offre de thèse ERC REVOLINC Project* » à jeremy.bouyer@cirad.fr, thierry.baldet@cirad.fr et renata.almeida@cirad.fr.

Contexte

Cette proposition de thèse entre dans le cadre du projet ERC REVOLINC (*Revolutionizing Insect Control*). Le projet ERC REVOLINC vise le contrôle d'insectes ravageurs des cultures et vecteurs de maladies par des méthodes de lutte novatrices et alternatives dérivées de la technique des insectes stériles (SIT). La méthode SIT consiste à élever en masse des mâles de l'insecte cible, puis à les stériliser par irradiation avant de les relâcher dans l'environnement, où ils entrent en compétition pour la reproduction avec leurs homologues sauvages, non stériles, diminuant ainsi la fécondité de la population et aboutissant à son contrôle.

L'utilisation opérationnelle de la SIT s'est limitée à des essais à petite échelle en Europe, alors qu'elle a été utilisée à large échelle avec succès sur d'autres continents, comme pour l'élimination de *Cochliomyia hominivorax* en Amérique du Nord et Centrale, l'élimination de la mouche méditerranéenne des fruits (*Ceratitis capitata*) aux EUA, sud Mexique et nord Guatemala (Bouyer and Vreysen 2012). Cette limite est principalement due au fait que le principe de la technique nécessite de cibler des populations d'insectes isolées ou de traiter des aires géographiques importantes pour être efficace et que, par conséquent, les essais à petite échelle ne permettent pas de démontrer tout son potentiel (Vreysen et al. 2013). En Afrique, la méthode est utilisée pour éradiquer les mouches tsé-tsé, vecteurs de trypanosomoses permettant l'amélioration des systèmes de production animale dans plusieurs pays (Dicko et al. 2014, Vreysen et al. 2014).

Problématique

Le principal goulot d'étranglement de la SIT est généralement la disponibilité de quantités suffisantes de mâles stériles de qualité (présentant une bonne compétitivité) pour imposer un rapport mâles stériles/mâles sauvages suffisant pour réduire ou éradiquer les populations d'insectes cibles. Pour *Cochliomyia hominivorax* et *Ceratitis capitata*, on dispose de souches de sexage génétique (Franz 2005, Ogaugwu et al. 2013, Concha et al. 2016) mais de telles souches ne sont pas encore disponibles chez les moustiques, en particulier *Aedes albopictus*.

Aedes albopictus (Diptera : Culicidae) ou moustique tigre est une espèce invasive à l'échelle planétaire. Ce moustique constitue une nuisance importante et transmet des arbovirus provoquant chez l'homme des maladies graves (dengue, Chikungunya, Zika). Il représente désormais une menace sanitaire en France et plus généralement dans toute l'Europe du Sud où cette espèce est maintenant installée. Face à ce risque, il est nécessaire de développer des méthodes de lutte efficaces et respectueuses de l'homme et de l'environnement. Le projet ERC REVOLINC cible donc particulièrement *Ae. albopictus* à travers le développement de méthodes de lutte novatrices et alternatives dérivées de la technique des insectes stériles (Bouyer et al. 2016).

Dans le contexte de la SIT, étant donné le rôle vecteur et la nuisance associée aux piqûres des femelles de moustique, il est obligatoire de ne relâcher que des mâles. Ceci est actuellement réalisé par tri mécanique manuel des nymphes, par l'utilisation de séparateurs de Hocks, ce qui n'offre pas une sélection parfaite des mâles, et représente une charge de travail énorme ne permettant pas une production de masse suffisante pour des lâchers opérationnels.

Des méthodes pour produire génétiquement des mâles stériles de moustiques ont été récemment développées et ont un intérêt accru pour la production de masse de mâles stériles afin de permettre l'application de la SIT pour contrôler les populations de moustiques ciblées et les maladies vectorielles reliées. Toutefois, le largage dans la nature de moustiques génétiquement modifiés rencontrera sans aucun doute des obstacles considérables au niveau des organismes de réglementation qui traitent des questions de sécurité et face aux préoccupations du public.

Méthodologie

Pour surmonter ces obstacles, le projet ERC REVOLINC vise entre autre à développer une méthode de production massive de mâles de l'espèce *Ae. albopictus*, en explorant trois possibilités :

- i) Tester et valider sur les souches d'*Aedes albopictus* qui seront utilisées dans le projet un système de tri mécanique automatisé développé par TRAGSA, Espagne (<http://www.tragsa.es/es/comunicacion/noticias/Paginas/17-conferencia-viena.aspx>) en collaboration avec l'AIEA. Cette méthode est basée sur l'utilisation du dimorphisme sexuel de taille des pupes chez cette espèce. La taille des pupes est analysée automatiquement par une série de cinq photos par puce lors d'un premier passage, puis un seuil de sélection est fixé avec pour objectif de récupérer plus de 90% des mâles produits tout en limitant la contamination par les femelles. Les femelles sont détruites par un laser ou triées. Les résultats de cette méthode seront utilisés comme référence pour les deux autres méthodes moléculaires décrites ci-dessous.
- ii) La deuxième méthode est basée sur l'utilisation d'ARNi. En effet, l'identification récente d'un facteur déterminant du sexe masculin (splice alternatif du gène double sex) et des gènes testicules-spécifique (*testis gene*) chez *Ae. aegypti* (et *Ae. albopictus*) pourrait permettre le développement d'outils visant à produire une population prédominante de mâles d'*Aedes albopictus* basés sur une technologie de l'ARN interférent (RNAi). Cette approche est décrite par Whyard et collaborateurs du *Department of Biological Sciences, University of Manitoba, Winnipeg, Canada* (Whyard et al., 2015) qui seront partenaires et encadrants de ce volet du projet.
- iii) La troisième méthode repose sur le développement d'une souche de sexage génétique par l'insertion d'une cassette génétique intégrant un promoteur endogène dépendant d'un inducteur spécifique et le facteur M (Adelman and Tu 2016) via la technologie CRISPR Cas9 (Adelman and Tu 2016). La technologie CRISPR Cas9 a déjà été utilisée sur le moustique anophèle par l'équipe de Eric Marois, Chargé de Recherche à l'Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire du CNRS à Strasbourg pour le développement de forçage génétique ciblant la reproduction des femelles (Hammond et al. 2016) ou leur susceptibilité à l'infection plasmodiale au sein des populations sauvages (Vолоhonsky et al. 2017). Cette équipe sera également partenaire et encadrante de ce volet de la thèse proposée. Plusieurs inducteurs ont déjà été identifiés par une méthode RNA seq visant à comparer l'expression des différents gènes en présence ou absence d'inducteurs (bleu de méthylène, éthanol, DMSO, sulfate de cuivre, sel). Les dix meilleurs gènes candidats seront vérifiés sur différentes souches par RT-qPCR avant de sélectionner un ou deux gènes candidats pour la construction de la cassette.

Calendrier prévisionnel

Lors des six premiers mois de thèse (juillet-décembre 2018), le doctorant réalisera une revue bibliographique des différentes méthodes citées ci-dessus. Ce travail de revue fera l'objet d'une première publication scientifique insérée dans la thèse.

Durant cette même période, le doctorant passera un mois au laboratoire FAO-IAEA IPCL pour tester et valider la méthode de tri mécanique pour les deux souches d'*Aedes albopictus* utilisées dans le projet (La Réunion, France et Valence, Espagne) afin d'établir une méthode de référence. Il effectuera également un séjour d'un mois dans le laboratoire du Dr. Steve Whyard, University of Manitoba et un séjour de même durée dans le laboratoire du Dr. Eric Marois, Université de Strasbourg pour s'initier aux méthodologies RNAi sur larves de moustiques et CRISPR Cas9 respectivement.

Durant cette période, il finalisera également l'identification des meilleurs gènes candidats par RT-qPCR.

Un comité de thèse organisé en décembre 2018 permettra de décider du calendrier ultérieur.

Profil candidat(e)

Nous recherchons d'abord une candidate ou un candidat motivé(e). Cette thèse nécessitera une familiarité avec/un intérêt pour l'entomologie médicale, les techniques de biologie moléculaire appliquées aux insectes vecteurs y compris en terme d'analyse et des connaissances solides en biologie. Des connaissances sur la biologie et l'écologie des insectes vecteurs (moustiques *Aedes*) et l'épidémiologie des arboviroses seraient des plus. Le candidat ou la candidate devra faire preuve de curiosité intellectuelle, de qualités d'écoute et de communication, une grande autonomie et maîtrise de soi, un sens aigu du relationnel, de l'organisation et de la collaboration pour établir des échanges de travail fructueux au sein de l'équipe d'accueil Cirad et avec les équipes de recherche partenaires impliquées dans le projet (AIEA, Université de Strasbourg, *University of Manitoba*). Une connaissance de l'Anglais lu-écrit et oral de niveau B2 est indispensable. Enfin cette thèse nécessitera des déplacements réguliers entre Montpellier, Vienne, Strasbourg et le Canada avec des séjours plus ou moins prolongés.

Références

- Adelman, Z. N., and Z. Tu. 2016. Control of Mosquito-Borne Infectious Diseases: Sex and Gene Drive. *Trends Parasitol.* 32: 219-229.
- Bouyer, J., and M. J. B. Vreysen. 2012. Invited conference: A need for a better integration of area-wide integrated pest management principles into vector control in Europe. *In* E. S. f. V. Ecology [ed.], 18th Conférence E-sove 2012. EID, CIRAD, IRD, Montpellier, France.
- Bouyer, J., F. Chandre, J. Gilles, and T. Baldet. 2016. Alternative vector control methods to manage the Zika virus outbreak: more haste, less speed. *The Lancet Global Health* 4: e364.
- Concha, C., A. Palavesam, F. D. Guerrero, A. Sagel, F. Li, J. A. Osborne, Y. Hernandez, T. Pardo, G. Quintero, and M. Vasquez. 2016. A transgenic male-only strain of the New World screwworm for an improved control program using the sterile insect technique. *BMC biology* 14: 72.

- Dicko, A. H., R. Lancelot, M. T. Seck, L. Guerrini, B. Sall, M. Lo, M. J. B. Vreysen, T. Lefrançois, F. Williams, S. L. Peck, and J. Bouyer. 2014. Using species distribution models to optimize vector control: the tsetse eradication campaign in Senegal. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111: 10149-10154.
- Franz, G. 2005. Genetic sexing strains in Mediterranean fruit fly, an example for other species amenable to large-scale rearing for the sterile insect technique, pp. 427-451. In V. A. Dyck, J. Hendrichs and A. S. Robinson (eds.), *Sterile Insect Technique. Principles and practice in area-wide integrated pest management.* Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Hammond, A., R. Galizi, K. Kyrou, A. Simoni, C. Siniscalchi, D. Katsanos, M. Gribble, D. Baker, E. Marois, S. Russell, A. Burt, N. Windbichler, A. Crisanti, and T. Nolan. 2016. A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. *Nat. Biotechnol.* 34: 78-83.
- Ogaugwu, C. E., M. F. Schetelig, and E. A. Wimmer. 2013. Transgenic sexing system for *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) based on female-specific embryonic lethality. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 43: 1-8.
- Volohonsky, G., A.-K. Hopp, M. Saenger, J. Soichot, H. Scholze, J. Boch, S. A. Blandin, and E. Marois. 2017. Transgenic Expression of the Anti-parasitic Factor TEP1 in the Malaria Mosquito *Anopheles gambiae*. *PLOS Pathogens* 13: e1006113.
- Vreysen, M. J. B., M. T. Seck, B. Sall, and J. Bouyer. 2013. Tsetse flies: their biology and control using area-wide integrated pest management approaches. *J. Invertebr. Pathol.* 112: S15–S25.
- Vreysen, M. J. B., K. Saleh, F. Mramba, A. Parker, U. Feldmann, V. A. Dyck, A. Msangi, and J. Bouyer. 2014. Sterile insects to enhance agricultural development: the case of sustainable tsetse eradication on Unguja Island, Zanzibar using an area-wide integrated pest management approach. *PloS Negl. Trop. Dis.* 8: e2857. Silencing the buzz: a new approach to population suppression of mosquitoes by feeding larvae double-stranded RNAs.
- Whyard S, Erdelyan CN, Partridge AL, Singh AD, Beebe NW, Capina R. 2015. Silencing the buzz: a new approach to population suppression of mosquitoes by feeding larvae double-stranded RNAs. *Parasit Vectors.* 12;8:96.