

Armadillidium vulgare dans son milieu de vie. Les mâles sont généralement plus foncés que les femelles.



© LEES

La symbiose : de la molécule à l'écosystème

A Poitiers, les associations hôtes-parasites sont au cœur des activités de recherche du Laboratoire Ecologie, Evolution, Symbiose (LEES UMR CNRS/Université de Poitiers 6556). Les chercheurs s'intéressent aux interactions symbiotiques entre des crustacés terrestres et des bactéries du genre *Wolbachia* qui ont la capacité de transformer leur hôte mâle en femelle.

Associé au CNRS depuis les années 1970, le laboratoire est reconnu mondialement pour ses travaux sur l'association entre les bactéries et les cloportes, crustacé terrestre modèle facilement manipulable par rapport aux crustacés aquatiques. Historiquement, les thématiques du laboratoire ont évolué au cours du temps: les chercheurs, plutôt des systématiciens dans les années 50, se sont vite intéressés à des problèmes de reproduction et d'éco-physiologie de la reproduction. Une question génétique s'est vite posée en particulier par l'existence d'un rapport des sexes biaisé en faveur des femelles dans la descendance des cloportes. Celui-ci ne correspondait pas à l'équilibre attendu, c'est-à-dire à un déter-

minisme du sexe via des chromosomes sexuels. L'arrivée de la microscopie électronique a ensuite permis d'en découvrir la cause: une alpha protéobactérie! Celle-ci présente dans les cellules des cloportes modifiait leur sexe et engendrait un plus grand nombre de femelles dans les populations. Avec l'avènement de la biologie moléculaire dans les années 90, cette bactérie a pu être assimilée au genre *Wolbachia*, une bactérie symbiotique probablement la plus répandue sur terre: 30 % des insectes actuels pourraient héberger cette bactérie. Chez les crustacés, 60 % des espèces seraient infectées. Les activités actuelles du laboratoire concernent « les interactions durables », avec comme modèle principal *Wolba-*

chia / Crustacés terrestres. Le thème fédérateur étant la symbiose entre ces deux organismes vivants. Dans ce cadre, les chercheurs ont une approche intégrée, de la molécule à l'écosystème; les uns ayant une approche « écosystémique » alors que d'autres travaillent sur les molécules ou les interactions cellulaires.

Les travaux sur la symbiose ont bénéficié ces dernières années de la fantastique évolution des technologies de séquençage en génomique. Si durant les années 90, les études suggéraient que le symbiote (*Wolbachia*) pilotait le déterminisme du sexe de l'hôte (cloporte) (résultat démontré avec des études de génétique traditionnelle, c'est-à-dire par des croisements) actuel-



© LEES

Le modèle biologique est facilement manipulable : on peut ainsi injecter des *Wolbachia* directement dans la cavité générale des cloportes pour créer une nouvelle association.

lement, les chercheurs travaillent avec des techniques de génétique moléculaire, comme du séquençage haut débit du génome pour étudier plus finement les interactions entre les deux organismes.

Une grande équipe

Le LEES n'est pas constitué de groupes au sens habituel d'équipes. Le personnel se répartit selon deux grands axes :

- le premier concerne les interactions symbiotiques. Les chercheurs s'intéressent aux mécanismes moléculaires et cellulaires. Ils travaillent sur l'aspect fonctionnel de la symbiose.
- le second comprend des chercheurs qui travaillent plutôt au niveau des populations et des écosystèmes.

Un lien étroit relie les deux groupes de scientifiques, car toute modification de la symbiose entraîne forcément des répercussions au niveau populationnel. Le fait que les cloportes produisent plus de femelles a aussi des conséquences sur la structuration des écosystèmes. En effet, les cloportes sont des animaux de la faune du sol qui jouent un rôle clé dans le recyclage des matières organiques. Dès lors que ces populations de détritivores sont modifiées, le fonctionnement de l'écosystème l'est aussi.

Le laboratoire comprend 14 chercheurs CNRS et enseignants chercheurs et huit techniciens (ITA CNRS et IATOSS). Les techniciens travaillent sur un plateau

technique au service des chercheurs : ils ne travaillent pas spécifiquement avec tel ou tel scientifique mais plutôt sur des projets de recherche. Des réunions techniques régulières permettent aux membres du laboratoire d'échanger, d'aborder les difficultés diverses et variées rencontrées (planning de travail, appareils en panne...) et aux chercheurs de présenter leurs demandes de soutien technique. Ces réunions permettent ainsi de hiérarchiser les priorités et de planifier les missions des techniciens sur certaines périodes pour répondre aux demandes de chacun. Il y a également mutualisation de certains travaux : par exemple les méthodes de base comme les analyses d'ADN.

Plus de 150 espèces de cloportes en élevage

Un outil important propre à un grand nombre de laboratoires de biologie est l'élevage du modèle animal. Les cloportes, modèle historique du laboratoire, sont de bons modèles pour les études des relations symbiotiques. Certaines espèces de cloportes ne se reproduisent qu'une fois par an. Ce rythme de reproduction est un frein aux études de génétique. Il est crucial pour le laboratoire d'avoir un élevage fonctionnel et durable dans le temps pour ses études. Certaines lignées au LEES datent d'ailleurs des débuts de la structure et ont permis de démontrer le pilotage du sexe de l'hôte par le symbiote. Elles sont donc non seulement très anciennes mais surtout extrêmement précieuses. Leur disparition entraînerait la perte de 40 ans de croisements. Dans les lignées conservées au LEES, on peut trouver différentes espèces, différentes populations issues du monde entier, mais aussi des lignées génétiquement contrôlées dont le pedigree est connu et maîtrisé. Certaines vivent en symbiose avec *Wolbachia* alors que d'autres non. D'autres ont été manipulées, par introduction artificielle d'un symbiote. Des femelles sont ainsi produites grâce à la présence du symbiote, tout en possédant un matériel génétique mâle.

Le laboratoire a ainsi plus de 150 es-



© LEES

pèces en élevage : des espèces européennes, d'Amérique du Nord, du Sud, d'Asie et d'Afrique du Nord. Le monde entier est représenté, chaque espèce comprenant en outre plusieurs populations. Ce fond documentaire d'animaux est enrichi en permanence. Par convention ou collaboration, chaque mission à l'étranger est l'opportunité pour les chercheurs du laboratoire de collecter de nouveaux échantillons qui alimenteront l'élevage.

Les élevages sont répartis dans une quinzaine de salles sur un étage complet du bâtiment.

Salle d'élevage contrôlé. Chaque boîte contient la descendance d'une femelle croisée avec un mâle. Les individus sont identifiés par un matricule permettant ainsi de suivre des généalogies, dont certaines datent de plusieurs dizaines d'années.

Tylos Europeus



© LEES

Différentes études sur la symbiose

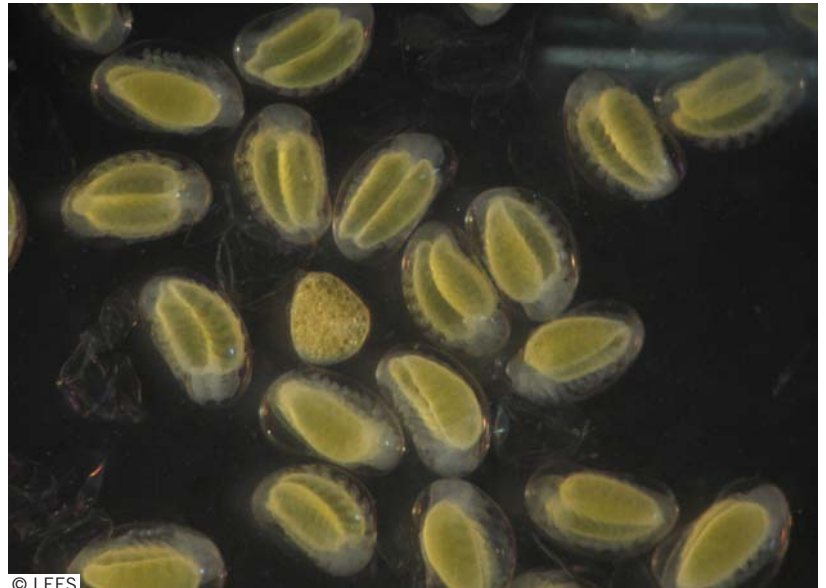
Actuellement, les études du LEES se font, entre autres, grâce à des programmes de recherche financés par l'Agence Nationale de la Recherche et l'European Research Council. L'un de ces programmes consiste à analyser la symbiose dans différents modèles (crustacés terrestres, insectes, bactéries). Certains modèles symbiotiques sont mutualistes (chaque partenaire en retire un profit), d'autres sont plutôt « conflictuels » (l'hôte développe une réaction immunitaire) et d'autres sont vecteurs de pathogènes pour l'homme (dengue, etc.). Le but de ce projet est de comparer différents systèmes symbiotiques et d'essayer de mettre en évidence des mécanismes communs. Les chercheurs s'intéressent particulièrement aux mécanismes de l'immunité. L'objectif final est de pouvoir proposer, via l'association symbiotique, des moyens de lutte respectueux de l'environnement contre les espèces ravageuses ou vectrices de maladies.

Un deuxième projet se concentre sur un aspect plus évolutif. Les chercheurs se penchent tout particulièrement sur l'évolution des interactions entre hôtes et symbiotes. Par exemple, via des transferts horizontaux artificiels de *Wolba-*

Armadillidium vulgare femelle (à gauche) et mâle (à droite).



© LEES



© LEES

Les œufs de cloportes se développent dans une poche marsupiale sous le ventre de la mère. Sur ces jeunes embryons en début de développement, le début de segmentation est visible (les animaux adultes possèdent 7 paires de pattes).

chia d'un hôte naturel vers un hôte différent, les scientifiques analysent les conséquences phénotypiques (la répartition et l'effet de *Wolbachia* dans les populations d'hôtes), les pressions de sélection sur les symbiotes à la suite de ces passages et les effets de leur présence sur l'hôte. Chez les hôtes, l'expression des gènes liés à l'immunité sont étudiés suite à des infections. L'étude des relations symbiotiques ou des relations hôtes / pathogènes apportent des données nouvelles sur le rapport transmission / virulence.

Un autre aspect concerne la génomique évolutive. L'étude consiste à élucider l'influence de la symbiose sur le déterminisme du sexe chez l'hôte. Les chercheurs ont par exemple montré que *Wolbachia* pouvait transférer tout ou une partie de son génome dans le cloporte. Ce matériel génétique y perdure ensuite, même si les symbiotes ne sont pas conservés. Grâce à des techniques de séquençage haut débit, les chercheurs vont rechercher ces inserts provenant des symbiotes dans le génome des cloportes. Ils supposent que de part leur localisation sur les chromosomes de l'hôte, ils peuvent induire un changement de sexe. Beaucoup d'études en

biologie évolutive concernent l'origine et le rôle du sexe au cours de l'évolution. Le modèle d'association entre une bactérie et un cloporte est d'actualité car les résultats des études au LEES permettraient d'apporter des éléments sur l'origine symbiotique du sexe.

D'autres études se font à un autre niveau, celui des écosystèmes. Des chercheurs du laboratoire s'intéressent à l'impact des changements globaux sur la biodiversité. Généralement les carabes sont utilisés comme bio-indicateurs des agro-systèmes; grâce à l'expertise du laboratoire sur les cloportes ces modèles animaux révèlent dorénavant leur intérêt. Des collaborations sont en cours avec une association d'agriculteurs sur un programme de développement de grandes cultures de céréales et protéagineux économes en ressources naturelles. Les premiers résultats ont montré un important impact sur la biodiversité des arthropodes du sol (en particulier des cloportes) avec des changements de pratiques culturales (plus écologiques avec moins d'intrants).

Des crustacés aquatiques sont aussi sous la loupe des chercheurs: les écrevisses sont utilisées comme bio-indicateurs dans les écosystèmes aqua-



Le changement de pratique agricole (prairie versus culture de maïs) est suivi pour en mesurer les impacts sur la diversité de la macrofaune du sol.

tiques. Les changements de pratiques culturelles qui modifient le paysage, les compositions des sols et également les rejets dans les cours d'eau sont ainsi étudiés à l'aide de ces deux types de bio-indicateurs terrestres et aquatiques.

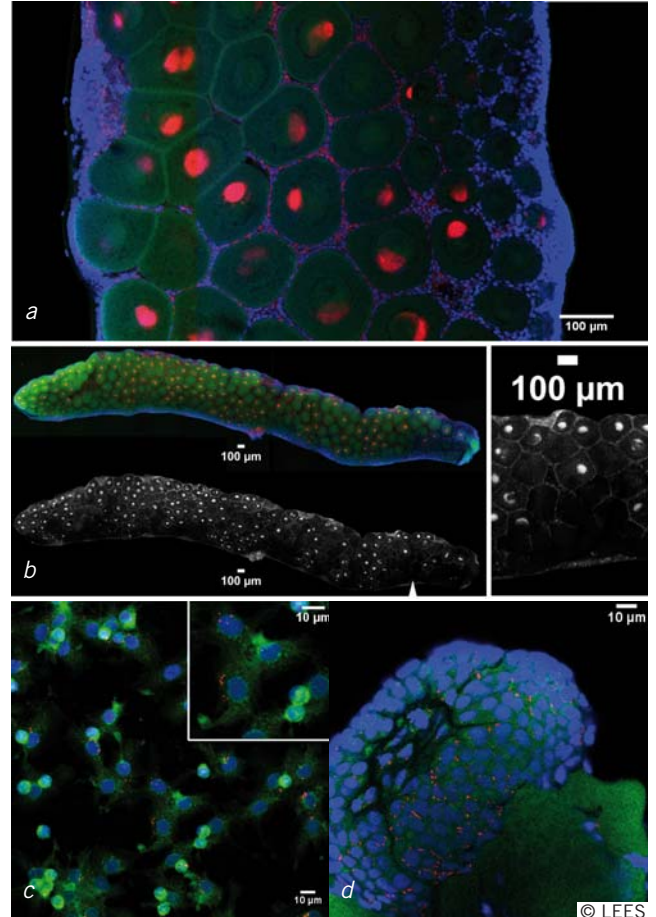
Des échanges européens

Le laboratoire fait partie d'un COST (programme européen de développement et de collaboration) regroupant environ 70 équipes de recherches réparties sur 17 pays. Son objectif est d'apporter une expertise dans le domaine de la lutte contre les ravageurs et les vecteurs à l'aide des associations symbiotiques. Les modèles *Wolbachia* et insectes sont majoritaires dans les sujets de recherches des équipes. Ce programme ne subventionne pas de recherches, mais finance des réunions thématiques annuelles, la mobilité d'étudiants et des écoles thématiques. En plus des échanges d'idées et de résultats, ce programme COST a donné lieu à de nombreuses collaborations entre laboratoires.

Un master européen

Le LEES est coordinateur d'un master Erasmus Mundus européen (*European*

Master in Applied Ecology) en collaboration avec 8 universités : Kiel en Allemagne, Coimbra au Portugal, Norwich en Angleterre, Athens aux États-Unis, Porto Alegre au Brésil, Adelaide en Australie, Otago en Nouvelle-Zélande et Quito en Équateur. La plupart des enseignants chercheurs ayant créé cette formation ont au préalable développé des collaborations scientifiques. Ils travaillent sur la faune d'arthropodes du sol et sur la symbiose. Cette formation s'est donc faite en partant de la recherche et y revient puisque un certain nombre d'étudiants des masters 2 réalisent leur stage de recherche dans les laboratoires travaillant sur la symbiose. Cette formation accueille annuellement 27 étudiants, soit environ 10 % des candidats. Le premier trimestre de la première année se passe à Poitiers. Lors du second semestre, les étudiants se séparent en groupes et vont suivre des cours dispensés dans les 4 universités fondatrices (Poitiers, Kiel, Coimbra et Norwich). Leur mobilité est prise en charge par le programme Erasmus. La formation à Poitiers est plus axée sur la dynamique des populations et des milieux terrestres ; l'Université de Norwich est plutôt spécialisée sur les



Détection de *Wolbachia* en Hybridation in situ Fluorescente (FISH) chez *Armadillidium vulgare* (*Wolbachia* : rouge (FISH) ; noyaux : bleu (coloration au DAPI) ; actine : vert (coloration à la phalloïdine FITC)).

Dans les animaux infectés, les *Wolbachia* colonisent les ovocytes afin d'assurer leur transmission à la descendance (images a et b), ainsi que plus d'un tiers des hémocytes (image c), cellules qui sont pourtant responsables de la réponse immunitaire. Elles infectent jusqu'aux organes hématopoïétiques (image d) qui produisent les hémocytes.

changements globaux ; la formation à Kiel s'intéresse en particulier aux environnements côtiers (donc les zones humides) ; et enfin celle de Coimbra est plus axée sur l'éco-toxicologie. Les étudiants choisissent ensuite l'une des 9 universités partenaires pour faire leur seconde année de master. ■

Eric DARROUZET

Catherine SOUTY-GROSSET