

# PROPOSITION D'UN PROJET DE THÈSE A L'ÉCOLE DOCTORALE « Végétal, Animal, Aliment, Mer, Environnement »

## INFORMATIONS GÉNÉRALES

<p><b>Titre de la thèse</b> : Rôle des protéines auxiliaires dans la sensibilité des pucerons <i>Acyrtosiphon pisum</i> aux insecticides : cibles potentielles dans les stratégies de lutte contre les insectes ravageurs de culture basées sur l'ARN interférence.</p> <p>Involvement of auxiliary proteins in the sensitivity of <i>Acyrtosiphon pisum</i> aphids to insecticides: potential targets in crop pest control strategies based on RNA interference.</p>
<p><b>Acronyme</b> : <b>ATRAp (Auxiliary proteins Targeted by RNAi to control Aphid)</b></p>
<p><b>Discipline de recherche 1</b> : Biologie cellulaire, biologie moléculaire, biochimie</p> <p><b>Discipline de recherche 2</b> : Neurosciences</p>
<p><b>Spécialité</b> : Biochimie, biologie moléculaire et cellulaire</p>
<p><b>Trois mots-clés</b> : ARN interférence, insectes, protéines auxiliaires</p> <p><b>Three keywords</b>: RNA interference, insects, auxiliary proteins</p>
<p><b>Etablissement d'inscription</b> : Université d'Angers</p>
<p><b>Unité d'accueil</b> : Laboratoire de Signalisation Fonctionnelle des Canaux Ioniques et Récepteurs (SiFCIR)</p>
<p><b>Nom, prénom du directeur·rice de thèse (HDR indispensable)</b> : RAYMOND Valérie</p> <p><b>Adresse courriel</b> : valerie.raymond@univ-angers.fr</p> <p><b>Nom, prénom du co-encadrant·e de thèse (le cas échéant)</b> : GOVEN Delphine</p> <p><b>Adresse courriel</b> : delphine.goven@univ-angers.fr</p>
<p><b>Contact(s) (adresse postale)</b> :</p> <p>Laboratoire SiFCIR, USC INRAE 1330 SFR 4207 QUASAV</p> <p>UFR Sciences, Université d'Angers</p> <p>2 bld Lavoisier</p> <p>F-49045 ANGERS Cedex 01</p>
<p><b>Mode de recrutement (cf. Guide du recrutement)</b></p> <p>Le mode de recrutement du·de la doctorante dépend de la nature du financement du projet de thèse.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Concours (CDE)</p>

## DESCRIPTION SCIENTIFIQUE DU PROJET DE THÈSE

### Contexte socio-économique et scientifique : (10 lignes)

A l'heure actuelle, plus de 5000 espèces de pucerons sont comptabilisées dans le monde dont une centaine sont des ravageurs des cultures. La culture de légumineuses représente la 2<sup>ème</sup> production agricole mondiale. Le puceron du pois *A. pisum*, notre modèle d'étude qui colonise de nombreuses cultures de légumineuses, est alors responsable de centaines de millions de dollars de perte par an. Devant le peu de substances actives autorisées à ce jour pour la protection des cultures et devant l'émergence croissante d'insectes résistants conduisant à une perte de l'efficacité des traitements insecticides, il est nécessaire de tendre vers un contrôle agro-écologique des insectes ravageurs et de développer des stratégies alternatives de lutte. Chez l'insecte, les récepteurs nicotiniques neuronaux (nAChRs) sont les cibles de différentes familles d'insecticides. Les nAChRs interagissent avec de nombreuses protéines appelées protéines auxiliaires. Bien qu'il ait été démontré que ces protéines auxiliaires jouent un rôle important dans le fonctionnement des nAChRs chez les vertébrés, peu de données sont disponibles sur ces protéines chez les insectes.

### Hypothèses et questions scientifiques (8 lignes)

Des études réalisées chez l'insecte suggèrent que les protéines auxiliaires pourraient modifier la sensibilité des nAChRs à différentes molécules insecticides. Dans ce projet, nous émettons l'hypothèse que ces protéines auxiliaires pourraient être une cible privilégiée pour le développement de nouvelles stratégies de lutte contre *A. pisum*. Une des stratégies envisagées repose sur l'utilisation de l'ARN interférence ciblant ces protéines auxiliaires. Cette stratégie sera testée aussi bien sur des pucerons non exposés que sur des pucerons exposés à une faible dose de flupyradifurone, un des insecticides qui reste encore utilisé contre ce ravageur. Ainsi, grâce à l'utilisation d'ARN interférents ciblant les protéines auxiliaires, nous pourrions déterminer 1) si ces protéines sont impliquées dans la sensibilité des pucerons aux insecticides, 2) si ces ARN interférents peuvent être utilisés pour lutter efficacement contre les pucerons.

### Principales étapes de la thèse et démarche (10-12 lignes)

Le projet proposé se décompose en 3 tâches :

- ➊ Dans un 1<sup>er</sup> temps, la quantification de l'expression des ARNm des protéines auxiliaires sera entreprise par qPCR chez *A. pisum*. Puis, les ARN interférents ciblant les protéines auxiliaires d'intérêt seront « dessinés » et synthétisés.
- ➋ Les ARN interférents dirigés contre ces acteurs clés seront ensuite testés *in vivo* chez le puceron et leur efficacité en tant qu'agent de biocontrôle sera évaluée en mesurant la mortalité des pucerons. Afin d'évaluer le rôle des protéines auxiliaires dans la sensibilité des insectes aux insecticides ciblant le système cholinergique, des tests de mortalité seront réalisés chez des pucerons traités avec un ARN interférent d'intérêt et exposés à un insecticide.
- ➌ Enfin, après avoir déterminé les modifications de l'expression des protéines auxiliaires induites par l'exposition des pucerons à une dose sub létale de flupyradifurone, l'utilisation des ARN interférents dirigés contre ces protéines auxiliaires d'intérêt sera entreprise d'une part pour relier les variations d'expression des protéines auxiliaires à la perte de la sensibilité des pucerons vis-à-vis de la flupyradifurone et d'autre part pour restaurer la sensibilité d'*A. pisum* à cet insecticide et ainsi contourner les résistances mises en place par l'insecte.

### Approches méthodologiques et techniques envisagées (4-6 lignes)

Une analyse bio-informatique sera réalisée en collaboration avec Dr A. Jones (Oxford, GB) pour identifier l'ensemble des protéines auxiliaires du puceron du pois.

Les techniques de biologie moléculaire seront utilisées afin de quantifier les transcrits des protéines auxiliaires (RT-qPCR), de cloner les gènes d'intérêt et de synthétiser les ARN interférents (transcription *in vitro*)

Des tests toxicologiques seront utilisés afin d'évaluer le taux de mortalité des pucerons suite aux différents traitements (ARNi, insecticides, ARNi + insecticides).

### Compétences scientifiques et techniques requises pour le candidat

Le candidat devra avoir des compétences en bio-informatique, biologie moléculaire et en toxicologie. Des connaissances en neurobiologie de l'insecte et sur le mode d'action des insecticides seraient un atout.

<b>Nom de l'unité d'accueil :</b> Laboratoire de Signalisation Fonctionnelle des Canaux Ioniques et Récepteurs (SiFCIR)	<b>Nom de l'équipe d'accueil :</b>
<b>Nom de la directrice de l'unité :</b> RAYMOND Valérie	<b>Nom du/de la responsable de l'équipe :</b>
<b>Coordonnées de la directrice de l'unité :</b> E-mail : <a href="mailto:valerie.raymond@univ-angers.fr">valerie.raymond@univ-angers.fr</a> Tel : 02 41 73 50 70	<b>Coordonnées du/de la responsable de l'équipe :</b>
<b>Directrice de thèse</b> Nom, prénom : RAYMOND Valérie Fonction : Enseignante-chercheuse Date d'obtention de l'HDR : 2010 Employeur : Université d'Angers Taux d'encadrement doctoral dans le présent sujet : 50% Taux d'encadrement doctoral en cours (directions et co-directions) (%) : 0% Nombre de directions/co-directions de thèse en cours : 0	
<b>Co-encadrante de thèse 1</b> Nom, prénom : GOVEN Delphine Fonction : Enseignante-chercheuse Titulaire de l'HDR : <input type="checkbox"/> oui <input checked="" type="checkbox"/> non Si oui, date d'obtention de l'HDR : Employeur : Université d'Angers École doctorale de rattachement : ED VAAME Taux d'encadrement doctoral dans le présent projet : 50% Taux d'encadrement doctoral en cours (directions/co-directions/co-encadrements) (%) : 0 Nombre de directions/co-directions/co-encadrements de thèse en cours : 0	

### Devenir des anciens doctorants du/de la directeur·rice et co-directeur(s)/co-encadrant(s) de thèse (depuis 5 ans)

*Compléter les informations suivantes pour chaque ancien doctorant*

Nom, prénom : BANTZ Alexandre

Date de début et de fin de thèse : octobre 2017 - décembre 2020

Direction de thèse : RAYMOND Valérie & GOVEN Delphine (co-encadrante)

Emploi actuel, lieu : En recherche d'emploi

Contrat (post-doc, CDD, CDI) : Non applicable

Liste des publications issues de ce travail de thèse :

- Bantz A, Camon J, Froger JA, Goven D, Raymond V. (2018). Exposure to sublethal doses of insecticide and their effects on insects at cellular and physiological levels. *Curr Opin Insect Sci.* 30:73-78.

- Jones AK., Goven D., Froger JA., Bantz A., Raymond V. (2021). The cys-loop ligand-gated ion channel gene superfamilies of the cockroaches *Blatella germanica* and *Periplaneta americana*. *Pest Manag. Sci.* 77 (8): 37987-37999.

- Bantz A., Goven D., Siegwart M., Maugin S, Raymond V. (2022). Exposure to a sublethal dose of imidacloprid induces cellular and physiological changes in *Periplaneta americana*: Involvement of  $\alpha 2$  nicotinic acetylcholine subunit in imidacloprid sensitivity. *Pestic Biochem Physiol.* 181:105014.

Nom, prénom : PILON Alexandre

Date de début et de fin de thèse : septembre 2018 - juillet 2022

Direction de thèse : RAYMOND Valérie & GOVEN Delphine (co-encadrante)

Emploi actuel, lieu : Reprise d'études de Médecine, Université d'Angers

Contrat (post-doc, CDD, CDI) : Non applicable

Liste des publications issues de ce travail de thèse :

- Pilon A., Goven D., Raymond V. (2022) Pharmacological and molecular characterization of the A-type muscarinic acetylcholine receptor from *Anopheles gambiae*. *Insect Mol Biol.* 31(4):497-507.

Nom, prénom : LIGONNIERE Sébastien

Date de début et de fin de thèse : octobre 2020 - décembre 2023

Direction de thèse : RAYMOND Valérie & GOVEN Delphine (co-encadrante)

Emploi actuel, lieu : Ingénieur d'études, Angers

Contrat (post-doc, CDD, CDI) : CDD

Liste des publications issues de ce travail de thèse :

- Ligonniere S., Raymond V., Goven D. (2023) Use of double-stranded RNA targeting  $\beta 2$  divergent nicotinic acetylcholine receptor subunit to control pea aphid *Acyrtosiphon pisum* at larval and adult stages. *Pest Manag Sci.* 80(2):896-904.

- Ligonniere S., Bantz A., Raymond V., Goven D. (2024) Using RNA interference targeting a nicotinic acetylcholine receptor subunit to counteract insecticide accommodation mechanisms: example of the  $\beta 1$  subunit in the imidacloprid-accomodated american cockroach, *Periplaneta americana*. *J. Pesticide Sci.* 49(1):58-64.

**Publications majeures des 5 dernières années du·de la directeur·rice de thèse et co-directeur(s)/co-encadrant(s) sur le sujet de thèse :**

**Brevet:**

Goven D., Raymond V. (2022). Utilisation d'ARN interférents dirigés contre le système cholinergique pour lutter contre les insectes nuisibles. Numéro d'enregistrement : FR2204889.

**Publications**

- Jones AK., Goven D., Froger JA., Bantz A., Raymond V. (2021). The cys-loop ligand-gated ion channel gene superfamilies of the cockroaches *Blatella germanica* and *Periplaneta americana*. *Pest Manag. Sci.* 77 (8): 37987-37999.

- Bantz A., Goven D., Siegwart M., Maugin S, Raymond V. (2022). Exposure to a sublethal dose of imidacloprid induces cellular and physiological changes in *Periplaneta americana*: Involvement of  $\alpha 2$  nicotinic acetylcholine subunit in imidacloprid sensitivity. *Pestic Biochem Physiol.* 181:105014.

- Ligonniere S., Raymond V., Goven D. (2023) Use of double-stranded RNA targeting  $\beta 2$  divergent nicotinic acetylcholine receptor subunit to control pea aphid *Acyrtosiphon pisum* at larval and adult stages. *Pest Manag Sci.* 80(2):896-904.

- Ligonniere S., Bantz A., Raymond V., Goven D. Using RNA interference targeting a nicotinic acetylcholine receptor subunit to counteract insecticide accommodation mechanisms: example of the  $\beta 1$  subunit in the imidacloprid-accomodated american cockroach, *Periplaneta americana*. *J. Pesticide Sci.* (sous presse).

## FINANCEMENT DE LA THÈSE

<b>Origine(s) du financement de la thèse :</b> Contrat Doctoral Etablissement
<b>Salaire brut mensuel :</b> 2100 euros
<b>État du financement de la thèse :</b> Non acquis
<b>Date du début/durée du financement de la thèse</b> (Au format JJ/MM/AA, pour renseigner le contrat) : <b>01/10/2024 (3 ans)</b>

**Date :** 15/03/2024

**Nom, signature de la directrice d'unité :**



V. RAYMOND

**Nom, signature de la directrice de thèse :**



V. RAYMOND