Avis de Soutenance

Monsieur Mapenda GAYE

Biologie-Santé - Spécialité Maladies Infectieuses

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Termites champignonnistes, leur microbiote et leur impact

dirigés par Monsieur Oleg MEDIANNIKOV et Madame Florence FENOLLAR

Soutenance prévue le **vendredi 12 avril 2024** à 14h00

Lieu: Bâtiment IHU Méditerranée Infection – Site TIMONE 19-21 bd Jean MOULIN 13005 MARSEILLE

Salle: 08

Composition du jury proposé

M. Oleg MEDIANNIKOV	IRD, Aix-Marseille Université	Directeur de thèse
Mme Florence FENOLLAR	IHU, Aix-Marseille Université	Co-directrice de thèse
Mme Dorothée MISSE	IRD, Université de Montpellier	Examinatrice
Mme Laurence CAMOIN	Aix-Marseille Université	Président
M. Pierre MARTY	CHU de Nice	Rapporteur
M. Julien POMPON	IRD, Université Montpellier	Rapporteur

Mots-clés: Termites champignonnistes, microbiotes, Impact,,

Résumé:

Les termites sont des insectes eusociaux principalement abondants en Afrique. Ils sont aussi d'importants ingénieurs de l'écosystème. Ces insectes extraordinaires fascinent depuis longtemps les biologistes et les chercheurs en raison de leur mode de vie social unique, de leur polyphénisme de caste, de leurs symbioses et de leur écologie. Ils ont historiquement servi de ressources naturelles précieuse dans divers domaines, notamment dans la médecine traditionnelle, mais aussi comme ressources alimentaires chez l'homme et chez les animaux sauvages et d'élevage. Il est important de constater que les termites supérieurs (termites champignonnistes) entretiennent une relation symbiotique obligatoire et remarquable avec les champignons du genre Termitomyces établie depuis des millions d'années. Les nodules de ce champignon cultivé par les termites dans les meules fongiques de la termitière, constituent une source de nourriture pour les membres de la colonie. Selon des études ethnographiques et scientifiques, les meules fongiques présenteraient aussi des propriétés antimicrobiennes. Le microbiote des termites joue un rôle capital dans leur physiologie et leur comportement. Les tréponèmes du tractus intestinal des termites ont notamment un rôle principal dans la digestion de lignocellulose. Cependant, actuellement, les données sur les spirochètes du genre Treponema restent encore très rares, leur culture in vitro étant fastidieuse. Dans a première partie de notre thèse, une revue intitulée "Les termites : ravageurs, ingénieurs ou bienfaiteurs ?" donne un aperçu détaillé sur l'importance des termites et de leur environnement, termitières et produits dérivés tels que les champignons Termitomyces à travers différents endroits

du monde, et ce malgré parfois le rôle de ravageur de ces termites. Dans la deuxième partie, nous avons évalué in vitro les propriétés antimicrobiennes des extraits bruts de meules fongiques provenant de monticules de termites du Sénégal sur une série de micro-organismes d'origine clinique, y compris des bactéries multirésistantes. Nous avons procédé à un examen approfondi de 11 meules fongiques provenant de cinq espèces de termites et nous avons découvert des propriétés antibiotiques remarquables des extraits bruts des meules fongiques. Nous avons identifié, en particulier, le méglutol comme un composant important dans les fractions actives de plusieurs meules, notamment ceux collectés dans les champs agricoles. La non-détection de ce méglutol dans d'autres meules fongiques pourrait être liée à la présence de molécules bioactives non encore détectées dans les meules fongiques, contribuant ainsi ‡ leur pouvoir antimicrobien. Dans la troisième partie de notre thèse, au Sénégal, nous avons étudié la présence de tréponèmes de la famille des Breznakiellaceae dans diverses espèces de termites en utilisant des méthodes moléculaires et de microscopie électronique modernes. Parmi les 62 colonies de termites étudiées, 82,2% des échantillons portaient de l'ADN de tréponèmes. Nous avons ensuite caractérisé ces tréponèmes identifiés par amplification du gène 23S de l'ARNr à l'aide d'une PCR standard spécifique aux Treponemataceae et aux Breznakiellaceae. Les séquences obtenues ont montré une similarité avec des tréponèmes connus. Afin de confirmer la présence des tréponèmes identifiés moléculairement, nous avons également utilisé la microscopie électronique (Hitachi TM4000), une autre technique innovante pour confirmer et détecter la présence de Treponema chez Trinervitermes geminatus. Nos travaux nous ont donc permis d'une part de confirmer la présence de molécules bioactives dont le méglutol dans les meules fongiques. D'autre part, en utilisant une approche moléculaire et de microscopie électronique, nous avons montré que la diversité phylogénétique des tréponèmes intestinaux des termites est plus importante que prévu.

LE DOW

Georges LEONETT

Résumé

Les termites sont des insectes eusociaux principalement abondants en Afrique. Ils sont aussi d'importants ingénieurs de l'écosystème. Ces insectes extraordinaires fascinent depuis longtemps les biologistes et les chercheurs en raison de leur mode de vie social unique, de leur polyphénisme de caste, de leurs symbioses et de leur écologie. Ils ont historiquement servi de ressources naturelles précieuses dans divers domaines, notamment dans la médecine traditionnelle, mais aussi comme ressources alimentaires chez l'homme et chez les animaux sauvages et d'élevage. Il est important de constater que les termites supérieurs (« termites-champignonnistes ») entretiennent une relation symbiotique obligatoire et remarquable avec les champignons du genre *Termitomyces* etablie depuis des millions d'années. Les nodules de ce champignon cultivé par les termites dans les meules fongiques de la termitière, constituent une source de nourriture pour les membres de la colonie. Selon des études ethnographiques et scientifiques, les meules fongiques présenteraient aussi des propriétés antimicrobiennes.

Le microbiote des termites joue un rôle capital dans leur physiologie et leur comportement. Les tréponèmes du tractus intestinal des termites ont notamment un role principal dans la digestion de lignocellulose. Cependant, actuellement, les données sur les spirochètes du genre *Treponema* restent encore très rares, leur culture *in vitro* étant fastidieuse.

Dans la première partie de notre thèse, une revue intitulée "Les termites : ravageurs, ingénieurs ou bienfaiteurs ?" donne un aperçu détaillé sur l'importance des termites et de leur environnement, termitières et produits dérivés tels que les champignons *Termitomyces* à travers différents endroits du monde, et ce malgré parfois le rôle de ravageur de ces termites.

Dans la deuxième partie, nous avons évalué *in vitro* les propriétés antimicrobiennes des extraits bruts de meules fongiques provenant de monticules de termites du Sénégal sur une série de micro-organismes d'origine clinique, y compris des bactéries multirésistantes. Nous avons procédé à un examen approfondi de 11 meules fongiques provenant de cinq espèces de termites et nous avons découvert des propriétés antibiotiques remarquables des extraits bruts des meules fongiques. Nous avons identifié, en particulier, le méglutol comme un composant important dans les fractions actives de plusieurs meules, notamment ceux collectés dans les champs agricoles. La non-détection de ce méglutol dans d'autres meules fongiques pourrait être liée à la présence de molécules bioactives non encore détectées dans les meules fongiques, contribuant ainsi à leur pouvoir antimicrobien.

Dans la troisième partie de notre thèse, au Sénégal, nous avons étudié la présence de tréponèmes de la famille des *Breznakiellaceae* dans diverses espèces de termites en utilisant des méthodes moléculaires et de microscopie électronique modernes. Parmi les 62 colonies de termites étudiées, 82,2% des échantillons portaient de l'ADN de tréponèmes. Nous avons ensuite caractérisé ces tréponèmes identifiés par amplification du gène 23S de l'ARNr à l'aide d'une PCR standard spécifique aux *Treponemataceae* et aux *Breznakiellaceae*. Les séquences obtenues ont montré une similarité avec des tréponèmes connus. Afin de confirmer la présence des tréponèmes identifiés moléculairement, nous avons également utilisé la microscopie électronique (Hitachi TM4000), une autre technique innovante pour confirmer et détecter la présence de *Treponema* chez *Trinervitermes geminatus*.

Nos travaux nous ont donc permis d'une part de confirmer la présence de molécules bioactives dont le méglutol dans les meules fongiques. D'autre part, en utilisant une approche moléculaire et de microscopie électronique, nous avons montré que la diversité phylogénétique des tréponèmes intestinaux des termites est plus importante que prévu. Ces résultats permettent aussi de mieux comprendre la relation symbiotique entre les bactéries et les termites, et de mettre en lumière le rôle écologique des termites.

Abstract

Termites, primarily abundant in Africa, are eusocial insects that play a crucial role as ecosystem engineers. These extraordinary insects have long fascinated biologists and researchers due to their unique social lifestyles, caste polyphenism, symbioses, and ecology. Historically, they have served as valuable natural resources in various fields, including traditional medicine, human dietary practices, and livestock nutrition. Notably, higher termites, also known as "fungus-farming termites," maintain a mandatory and remarkable obligate symbiotic relationship with fungi of the genus Termitomyces, established over millions of years. Nodules of this fungus, cultivated by termites in fungal combs within the termite nest, serve as a food source for colony members. Recent studies have indicated antimicrobial properties in these fungal mounds, as revealed through ethnographic and scientific investigations. The termite microbiota also plays a crucial role in their physiology and behavior. Treponemes in the intestinal tract of termites have been found to play a significant role in lignocellulose digestion. Currently, data on *Treponema* spirochetes remain scarce, and in vitro culture remains a challenging task.

In the first part of our thesis, a review titled "Termites: Pests, Engineers, or Benefactors?" provides a detailed overview of the importance of termites, their environment, mounds, and derivatives such as *Termitomyces* fungi across different global locations, despite their occasional pest role.

In the second part, we conducted *in vitro* evaluations of the antimicrobial properties of crude fungal extracts from termite mounds in Senegal against a series of clinically relevant microorganisms, including multidrug-resistant bacteria. An in-depth examination of 11 fungal mounds from five termite species revealed remarkable antibiotic properties in the crude extracts. Particularly, meglutol was identified as a significant component in the active fractions of several mounds, especially those collected in agricultural fields. The non-detection of meglutol in other fungal mounds could be linked to the presence of as-yet-undetected bioactive molecules contributing to their antimicrobial potency.

In the third part of our thesis, we investigated the presence of treponemes from the *Breznakiellaceae* family in various termite species using advanced molecular and electron microscopy methods. Among the 62 termite colonies studied, 82.2% of the samples carried *Treponema* DNA. We characterized these treponemes by amplifying the 23S rRNA gene using standard PCR specific to *Treponemataceae* and *Breznakiellaceae*. The obtained

sequences showed similarity to known treponemes. To confirm the presence of molecularly identified treponemes, we also utilized electron microscopy (Hitachi TM4000), an innovative technique, to confirm and detect treponema in *Trinervitermes geminatus*.

Our work confirmed the presence of bioactive molecules, including meglutol, in termite fungal mounds. Furthermore, using molecular and electron microscopy approaches, we demonstrated that the phylogenetic diversity of intestinal Treponemes is more significant than previously anticipated. These results contribute to a better understanding of the symbiotic relationship between bacteria and termites and highlight the ecological role of termites.