

Selon la théorie synthétique de l'évolution, la variabilité n'est créée qu'à partir des formes géniques déjà existantes, grâce à deux grands processus évolutifs ; la mutation et la recombinaison génétique homologe. Ces deux mécanismes permettent de faire évoluer pas à pas le génome en créant différentes versions parmi lesquelles, les formes les plus adaptées seront conservées. Pourtant, ces dernières années, les avancées en génomique révèlent que ces deux mécanismes ne sont pas les seuls à permettre au génome d'évoluer. En effet, le séquençage de nombreux génomes a révélé la présence récurrente de formes génétiques exogènes provenant d'organismes issus de différentes lignées évolutives. Ces transferts d'information génétique entre lignées différentes, entraînent de nombreuses modifications ; au niveau génomique puisque la structure du génome n'est plus la même, mais également d'un point de vue phénotypique puisque l'expression de l'information exogène peut entraîner des modifications physiologique et/ou morphologique.

Chez les procaryotes, les transferts de gènes horizontaux sont fréquents et constituent un processus d'évolution majeur. Ils se produisent via les phénomènes de conjugaison et de transformation mais aussi par transduction par l'intermédiaire de bactériophage. Chez les gammaprotéobactéries, par exemple, la plupart des génomes étudiés montre que la majorité des gènes est issue d'acquisition exogènes qui ont eu lieu après la divergence de ces lignées depuis un ancêtre commun (Lerat et al., 2003). De plus, si l'on compare l'ensemble des gènes de différentes souches d'*Escherichia coli* très proches phylogénétiquement (99% d'homologie entre les gènes orthologues), on observe qu'au moins 25% des gènes présents dans un génome sont absents chez les autres souches. Cette différence entre des souches très proches, est le résultat d'une acquisition récente de gènes de sources exogènes et souvent inconnues (Welch et al., 2002)). En permettant l'acquisition d'une information différente suivant les lignées, ces transferts, influencent les processus de diversification et d'adaptation. En effet, chez *E. coli* par exemple, ces transferts confèrent des nouveaux pouvoirs pathogènes, via les îlots de pathogénicité (Welch et al., 2002) et jouent un rôle important dans la résistance des bactéries aux métaux lourds (Liebert et al., 1999) ou à des composés toxiques (Top and Springael, 2003), ce qui permet aux bactéries de coloniser de nouvelles niches.

Chez les protistes, les transferts horizontaux constituent aussi un mécanisme évolutif important et contribuent significativement à l'évolution de leur génome (Morrison et al., 2007; Striepen et al., 2004; Templeton, 2007; Templeton et al., 2004). Chez le parasite humain *Giardia*

lamblia, les transferts de gènes ont façonné la structure du génome et les gènes codant les voies métaboliques sont largement représentés par des gènes d'origine bactérienne (Morrison et al., 2007).

Au contraire des êtres unicellulaires, et malgré certains cas isolés comme les transferts horizontaux massifs chez les Rotifères (Gladyshev et al., 2008), les transferts de gènes ne constituent pas un mécanisme majeur de l'évolution des génomes des organismes eucaryotes, chez qui l'acquisition de nouvelles fonctions est majoritairement expliquée par les duplications de gènes (Arguello et al., 2006; Katju and Lynch, 2003).

Cependant, les transferts physiques d'information génétique ne constituent pas la seule possibilité d'acquérir de nouvelles fonctions et les symbioses en associant de manière durable des organismes non apparentés représentent une alternative efficace.

Les symbioses concernent toutes les branches du vivant impliquant des virus, des bactéries ou des cellules eucaryotes (Moran et al., 2005). Dans ce cas, même si le transfert d'information n'est pas physique et ne modifie pas la structure du génome de l'hôte, l'information du symbiote peut s'exprimer et conférer de nouvelles fonctions à son partenaire. De telles associations, au contraire des interactions proies-prédateurs, impliquent une grande intimité entre les partenaires associés. On peut ainsi se demander quel sera le devenir des partenaires impliqués dans une telle association et comment cette symbiose évolue au cours du temps.

Les enjeux évolutifs impliqués dans ces associations sont en effet considérables. Les données croissantes en génomique permettent de mesurer les conséquences de ces associations sur le devenir des partenaires et de mieux comprendre les raisons de leur maintien au cours de l'évolution. En effet, la génomique a permis d'identifier les gènes qui sous-tendent la symbiose et qui codent des fonctions indispensables à l'hôte. Elle permet aussi de comprendre les modifications génomiques qui rendent l'association obligatoire et conditionnent son devenir. Ainsi, elle a permis de montrer qu'une partie des génomes des mitochondries et des chloroplastes était transférée dans le génome de la cellule hôte, soulignant le rôle de ces échanges dans le maintien de la symbiose et mettant en évidence le rôle des symbioses dans les phénomènes de transfert de gènes.

Les symbioses ont été largement étudiées chez les bactéries ; elles fournissent à leur hôte les métabolites et vitamines indispensables à leur croissance en milieu limité. Nous proposons de mieux comprendre les enjeux évolutifs et fonctionnels engagés dans une symbiose particulière impliquant une guêpe parasitoïde et un virus, qui est le seul mutualisme connu entre un virus et

un organisme eucaryote. Au sein de la symbiose, le virus et la guêpe sont étroitement liés, au niveau fonctionnel puisque l'association est indispensable au succès du parasitisme mais également au niveau génomique puisque le génome du virus est intégré dans le génome de la guêpe.

Au cours de ma thèse, je me suis intéressée aux **fonctions** acquises via cette symbiose, à leur **évolution** au cours de l'histoire de la symbiose et à leur **rôle potentiel** dans le succès du parasitisme.

L'introduction de ce manuscrit a pour but de montrer d'une part en quoi les symbioses ont contribué à l'adaptation des espèces et à l'évolution des génomes et d'autre part le caractère très singulier de la symbiose entre une guêpe parasitoïde et un virus

A-Symbioses et conséquences adaptatives

1-La symbiose : une interaction durable

La symbiose est définie comme étant une association intime et durable entre deux organismes appartenant à deux espèces différentes. On distingue deux grands types de symbioses : le parasitisme où l'un des partenaires tire profit de son associé et le mutualisme où chacun des partenaires bénéficie de l'association. Combes (2001) (Combes, 2001) propose 3 raisons à l'établissement d'une telle association : l'hôte constitue pour son symbiote un habitat, un moyen de dispersion et/ou une source d'énergie. Le maintien de cette association, qu'il s'agisse d'un parasitisme ou d'un mutualisme, dépend du bilan sélectif entre les coûts et les bénéfices s'appliquant à chacun des partenaires de l'association (Thompson, 1988).

Ce type d'interaction diffère du système proie-prédateur dans le sens où la relation entre les partenaires associés s'inscrit dans la durée. La symbiose est qualifiée d'interaction durable dans la mesure où les génomes des partenaires cohabitent sur le long terme (Combes, 2001). Combes insiste sur l'importance de cette notion de durée qui implique de nombreuses conséquences sur l'évolution des partenaires. Premièrement, le génome du symbiote peut s'exprimer à travers le génome de l'hôte, on parle alors de phénotype étendu (Dawkins, 1982). Par exemple, les insectes galligènes manipulent la croissance des végétaux et induisent la formation de galles qui les protègent des agresseurs et constituent une source de nourriture. D'autre part, l'association de deux génomes peut conduire à une redondance des fonctions codées ; il est alors possible qu'une même information soit codée par les deux génomes associés. Si les mutations peuvent être délétères dans le cas d'organismes libres, elles ne le sont plus dans le cas d'une symbiose, ce qui induit une perte de l'expression d'un des gènes par la formation de pseudogènes ou d'une manière plus radicale, par la délétion d'un de ces gènes. Finalement, ces interactions durables peuvent avoir pour conséquence des transferts horizontaux de gènes entre les génomes du symbiote et de l'hôte. Les conséquences évolutives des symbioses sur les partenaires de l'association seront évoquées et illustrées par des exemples précis au cours de cette introduction.

Les symbioses peuvent être classées en deux grandes catégories suivant le degré d'interdépendance entre le symbiote et son hôte : les symbioses obligatoires ou primaires et les symbioses facultatives ou secondaires.

Les symbioses obligatoires

Les symbioses obligatoires sont supposées être le résultat d'associations anciennes et spécialisées, transmises de manière verticale depuis le début de l'association. Ces symbioses sont apparues très tôt au cours de l'évolution ; l'âge de leur apparition variant de 270 à 30 millions d'années. Les partenaires impliqués dans ce type d'association partagent une histoire commune qui a marqué leur génome ainsi que leur physiologie (revue Dale and Moran, 2006).

L'une des signatures les plus évidentes de ces associations, est la réduction du génome du symbiote. Chez le symbiote bactérien *Buchnera aphidicola* qui fournit son hôte, le puceron, en nutriments essentiels, la symbiose s'est accompagnée d'une perte de nombreuses fonctions relatives à la réplication ou au métabolisme (van Ham et al., 2003; Zientz et al., 2004). Ces réductions génomiques empêchent le retour du symbiote à un mode de vie libre et renforce ainsi le lien entre les partenaires. Ces associations sont, en outre marquées par l'existence d'organes spécialisés destinés à l'accueil du symbiote. Le bactériome, par exemple, est un tissu mis en place par l'hôte et réservé à l'accueil de symbiotes bactériens tels que *Buchnera aphidicola* chez le puceron ou *Wigglesworthia glossinidia* chez la mouche tsé tsé. Ces organes constituent de véritables signatures d'une coévolution établie entre le symbiote et son hôte et participent au maintien de la symbiose. Ces modifications génomiques et morphologiques contribuent à maintenir, voire à renforcer l'interdépendance entre les partenaires. Les signatures de cette interdépendance, se manifestent au niveau macroévolutif par une histoire évolutive commune, comme en témoignent de nombreux exemples de co-phylogénies (Chen et al., 1999; Daniela M. Takiya, 2006; Hosokawa et al., 2006) (voir encadré 1).

Symbioses facultatives

Contrairement aux symbioses obligatoires, les symbioses facultatives sont considérées comme récentes et impliquent des symbiotes dont la transmission n'est pas strictement verticale mais souvent horizontale. En outre, ces symbiotes ne sont pas essentiels du point de vue de l'hôte et ils ne sont jamais logés au niveau de tissus spécialisés tels que les bactériomes. Le terme de l'association impliquant ces symbiotes peut être bénéfique et conférer, par exemple, une protection contre les ennemis naturels (Oliver et al., 2003) ou être délétère comme c'est le cas des

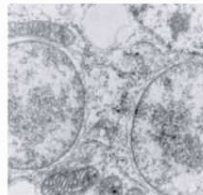
bactéries du genre *Wolbachia* qui envahissent la population hôte en manipulant sa reproduction (Werren et al., 2008).

Le degré d'intimité qui unit le symbiote à son hôte est ainsi variable d'une association à une autre et au sein même d'une association la nature de la relation ainsi que le degré de dépendance peuvent évoluer dans le temps. La bactérie *Wolbachia*, en général décrite comme un symbiote facultatif et parasite de la reproduction chez les Arthropodes, est par exemple devenue indispensable à l'ovogenèse chez la guêpe *Asobara tabida* (Dedeine et al., 2001).

Symbiose obligatoire: exemple de l'association Puceron/*Buchnera*

Le symbiote bactérien du genre *Buchnera* fournit à son hôte le puceron des nutriments essentiels, lui permettant de s'alimenter à partir d'une source nutritive limitée; la sève. Cette association ancienne, apparue il y a 100 à 200 millions d'années, est caractérisée par des adaptations (le bactériome) et une histoire évolutive qui témoignent de l'étroite relation établie entre les partenaires.

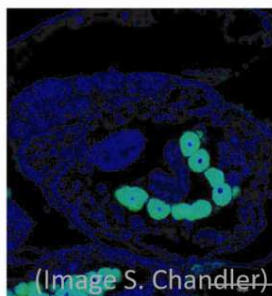
Buchnera dans les cellules hôtes



Acyrtosiphon pisum

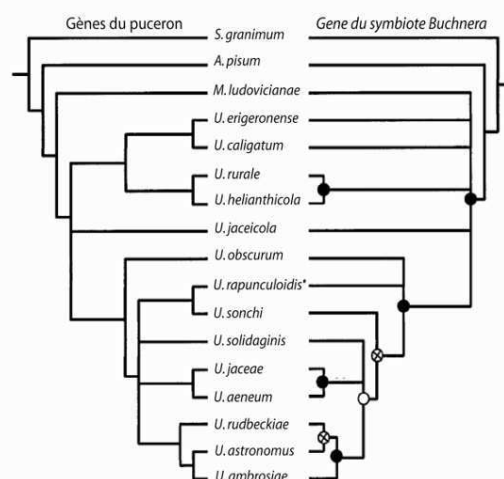


Le Bactériome:



Le symbiote est logé dans des cellules spécialisées de l'hôte. Ici, un marquage au FISH permet de visualiser l'endosymbiote (en vert) et un marquage au DAPI permet de visualiser les noyaux des cellules de l'hôte (en bleu).

Une histoire évolutive commune



Les partenaires impliqués dans une symbiose obligatoire sont caractérisés par une histoire évolutive commune marquée par une co-spéciation. (D'après Clark, 2000)

Encadré 1 Exemple d'une symbiose obligatoire entre un insecte et une bactérie.

2-Symbiose et acquisition de nouvelles fonctions

Les symbioses sont très répandues dans le monde vivant et ont joué un rôle majeur dans l'émergence des formes de vie et dans la diversification des organismes. L'illustration même du rôle majeur des symbioses dans l'évolution du vivant est l'apparition d'organites cellulaires tels que les mitochondries ou les chloroplastes à partir de cyanobactéries et d'alpha-protéobactéries respectivement. Ces symbioses, à l'origine de l'émergence des mécanismes de respiration et de photosynthèse dans le règne eucaryote, illustrent le rôle majeur de ces associations dans l'adaptation des espèces et leur radiation.

Les symbioses sont aujourd'hui connues chez de nombreux organismes et sont très bien décrites chez les plantes et les insectes.

Chez les plantes, les communautés bactériennes du sol ont largement participé à leur évolution et leur diversification, en fournissant des éléments essentiels à leur croissance.

A titre d'exemple, en permettant la fixation de l'azote du sol, les bactéries symbiotiques ont contribué à l'évolution des plantes légumineuses qui sont aujourd'hui largement distribuées et occupent une grande partie des forêts tropicales (van der Heijden et al., 2008).

Les champignons peuvent également entretenir des relations mutualistes avec les plantes. Il existe par exemple, un champignon mutualiste, présent chez les plantes des régions géothermales, qui confère à la plante hôte une thermo-tolérance (Redman et al., 2002). Récemment, une étude a montré que cette thermo-tolérance était liée à la présence d'un troisième partenaire associé aux champignons mutualistes ; un virus qui interviendrait dans la survie de la plante en détournant les produits oxydatifs libérés par le système de défense de la plante (Marquez et al., 2007). Cependant, la nature obligatoire ou facultative de la relation établie entre le champignon et le virus reste à être déterminée.

Chez les insectes, les symbioses nutritionnelles qui impliquent des symbiotes bactériens ont fait l'objet de plusieurs études. Ces symbioses procurent à leur hôte les éléments nutritionnels essentiels et leur ont permis de diversifier leur habitat. Les symbiotes obligatoires, transmis de manière verticale, peuvent contribuer à la spécialisation de leur hôte, c'est le cas du symbiote associé à l'Hétéroptère du genre *Megacopta* dont le génotype détermine la capacité de son hôte à sa nourrir sur une plante donnée. Ces symbiotes peuvent de cette manière favoriser la diversification de leur hôte (Hosokawa et al., 2007). Au contraire, les symbiotes non spécifiques et transmis de manière horizontale, peuvent permettre d'élargir le spectre d'habitats de son hôte. Dans ce cas au lieu de favoriser la spécialisation de son hôte et contribuer à sa diversification, le symbiote va

homogénéiser la population hôte et jouer un rôle inhibiteur sur la radiation de celle-ci (Kikuchi et al., 2007; Russell and Moran, 2005).

Les symbiotes bactériens peuvent également conférer à leur hôte insecte une protection contre les pathogènes. Par exemple, chez le puceron parasité par le parasitoïde *Aphidius ervi*, des symbiotes bactériens facultatifs permettent de réduire de manière significative le succès du parasitisme en contribuant à l'élimination des larves de parasitoïdes (Oliver et al., 2003).

Inversement, des symbiotes viraux peuvent jouer un rôle essentiel dans le succès parasitaire de certains Hyménoptères. Ces virus, de type polydnavirus, sont injectés lors de l'oviposition dans l'hôte Lépidoptère au sein duquel l'expression des gènes viraux joue un rôle essentiel dans la dérégulation des fonctions physiologiques de l'hôte et assure ainsi le succès du parasitisme (Turnbull and Webb, 2002).

Les organismes mutualistes sont ainsi impliqués dans différentes fonctions biologiques et constituent de véritables innovations permettant à leur hôte de coloniser de nouveaux habitats.

3-Symbioses et conséquences sur l'évolution des génomes

La génomique offre des bases solides à la compréhension de l'établissement d'une symbiose et des conséquences sur l'évolution des génomes des partenaires.

Le séquençage des génomes des hôtes et des symbiotes permet en effet de montrer en quoi les symbioses permettent l'acquisition de nouvelles fonctions et comment elles ont façonné le génome des partenaires.

Un exemple qui illustre particulièrement bien les conséquences génétiques associées à une interaction symbiotique concerne l'association entre le nématode parasite filaire *Brugia malayi* et son endosymbiote obligatoire *Wolbachia* (WBm). *B. malayi*, est transmis à l'homme par des moustiques de la sous-famille des Culicinae. L'association entre *B. malayi* et *Wolbachia* est de nature obligatoire puisqu'un traitement antibiotique inhibe la croissance et le développement du nématode (Fenn and Blaxter, 2006). Récemment les séquences complètes des génomes de *B. malayi* et de son endosymbiote ont été publiées offrant la possibilité de mesurer les fonctions impliquées dans le maintien d'une symbiose et les conséquences de cette association sur les deux génomes.

L'analyse du génome de *B. malayi* révèle que ce génome est non seulement façonné par le mode de vie parasitaire de ce nématode mais aussi par l'association symbiotique avec *Wolbachia*. En effet, cette étude montre l'absence totale de neuf enzymes sur dix impliquées dans la synthèse de purine, de six gènes sur sept impliqués dans la biosynthèse de l'hème et de 5 enzymes essentielles pour la biosynthèse des riboflavines. Ces produits métaboliques essentiels, peuvent être ingérés directement par le nématode ou plus vraisemblablement être fournis par l'endosymbiote *Wolbachia*, qui comporte dans son génome les voies de biosynthèse complètes des purines, de l'hème et des riboflavines. L'étude de ces génomes permet de caractériser les bases génétiques expliquant la nature obligatoire de cette association (Foster et al., 2005; Ghedin et al., 2007).

En outre, l'analyse du génome de *Wolbachia* WBm révèle une réduction génomique importante en comparaison du génome de la souche *Wolbachia* Wmel endosymbiote parasite de *Drosophila melanogaster*. Ces réductions reflètent des pertes de gènes liés au mode de vie parasite, puisque contrairement à Wmel, les gènes nécessaires à l'infection des cellules hôtes ou au contournement de la réponse immunitaire, ne sont plus indispensables à WBm devenu un endosymbiote obligatoire (Foster et al., 2005).

L'analyse de plusieurs génomes bactériens montre que ces réductions sont un phénomène fréquent chez les symbiotes. La réduction la plus extrême est illustrée par le génome de *Carsonella ruddii*, endosymbiote de l'insecte galligène *Pachypsylla venusta*. En effet, le génome de *C. ruddii* réduit à 160 kilobases, ne code plus pour les fonctions indispensables aux processus cellulaires bactériens et a même perdu des fonctions associées au maintien de la symbiose (Nakabachi et al., 2006) ! Ces réductions génomiques spectaculaires impliquent que le symbiote n'est plus capable de retourner à un mode de vie libre et illustrent l'étroite relation des partenaires associés. Dans ce cas, on peut se demander si cette information est totalement perdue par l'association ou si ces gènes ont été transférés dans le génome de l'hôte. Est ce que l'étroite relation établie entre le symbiote et son hôte favorise les échanges d'information génétique expliquant ces pertes inattendues de gènes ?

L'hypothèse supposant une acquisition de gènes via les symbioses doit être considérée. En effet, les génomes des mitochondries ou des chloroplastes, organites cellulaires issus d'évènements d'endosymbioses, sont caractérisés par la perte de gènes transférés dans le génome de l'hôte (Kurland and Andersson, 2000; Martin et al., 2002). Chez *Arabidopsis thaliana*, 18% des gènes codant sont le résultat d'un transfert depuis la cyanobactérie ancêtre des chloroplastes (Martin et al., 2002).

Le génome eucaryote est ainsi capable (1) d'intégrer de l'information génétique provenant d'une autre espèce, (2) de la maintenir de façon stable dans son génome, (3) de l'exprimer et (4) de la transmettre à sa descendance.

Pendant longtemps, les preuves de l'existence de ces transferts de gènes entre endosymbiotes et cellules hôtes étaient limitées aux mitochondries et aux chloroplastes. Pourtant des études récentes, réalisées chez la bactérie *Wolbachia*, prouvent que les transferts de gènes du symbiote vers son hôte eucaryote sont possibles (Hotopp et al., 2007; Kondo et al., 2002). Récemment, une étude a montré qu'une large portion du génome de *Wolbachia pipientis* est présente dans le génome de son hôte *Drosophila ananassae* et transmise de manière mendélienne à la descendance. Cependant, la faible expression des gènes impliqués dans ce transfert ne permet pas encore d'assurer qu'ils sont fonctionnels (Hotopp et al., 2007).

La mise en évidence de ces transferts de gènes suggère qu'ils ont été sous-estimés et qu'il faudra dans le futur, examiner rigoureusement la présence de gènes d'origine procaryote dans des génomes eucaryotes, avant de les considérer comme de potentielles contaminations.

Pour comprendre les avantages adaptatifs d'une symbiose et les conséquences évolutives d'une telle proximité sur le devenir des partenaires, nous avons étudié un mutualisme unique impliquant un virus de type polydnavirus et une guêpe parasitoïde. Cette symbiose atypique, représente un modèle particulièrement adapté à la compréhension des mécanismes fonctionnels et des enjeux évolutifs impliqués dans une symbiose.

B- Un mutualisme virus-guêpe parasitoïde : rôles et conséquences adaptatives ?

1-Une stratégie parasitaire unique

Les interactions entre Hyménoptères endoparasitoïdes et leurs hôtes insectes font partie des interactions les plus complexes du monde des insectes. Dans ce système très spécialisé, les larves de guêpes doivent survivre et se développer à l'intérieur du corps d'autres insectes, en général des larves de Lépidoptères. Les guêpes doivent, en particulier échapper au **système immunitaire** de l'hôte Lépidoptère. Les guêpes endoparasitoïdes ont pour cela développé

différentes **stratégies** afin de contourner ou inactiver cette réponse (Whitfield et al., 2003). Parmi ces stratégies, plusieurs groupes de guêpes ont développé un mécanisme de défense puissant qui consiste à injecter en même temps que leurs œufs un **virus symbiotique** de type **polydnavirus** (PDV). L'expression des gènes viraux dans le Lépidoptère joue un rôle essentiel dans le contrôle des fonctions physiologiques de l'hôte lépidoptère et assure le succès parasitaire de la guêpe (Turnbull and Webb, 2002).

Si d'autres virus mutualistes, tels que les réovirus, participent aussi au succès parasitaire de guêpes parasitoïdes (Renault et al., 2005), l'intimité de l'association entre les PDV et leurs hôtes constitue un cas unique de mutualisme entre un virus et un organisme eucaryote.

2- Une symbiose obligatoire

Les PDV sont des virus très particuliers en raison de leur cycle biologique et de l'intime relation qu'ils ont établie avec leurs hôtes.

Le génome viral est intégré dans le génome de la guêpe sous la forme d'un **provirus** et se transmet ainsi verticalement au cours des générations de guêpes (Desjardins et al., 2007). La réplication de l'ADN viral s'effectue de manière massive dans les ovaires des guêpes femelles au niveau des cellules du calyx, où le génome viral est excisé et circularisé en **multiples cercles d'ADN doubles brins** qui sont ensuite encapsidés. Les particules virales ainsi formées sont libérées dans la lumière de l'ovaire pour former une fraction du fluide du calyx dans lequel se trouvent les œufs matures. Lors de l'oviposition, les particules virales sont injectées en même temps que les œufs de guêpes dans l'hôte Lépidoptère. Le virus ne se réplique pas dans l'hôte parasité mais l'expression des gènes viraux induit une altération des fonctions physiologiques de l'hôte parasité assurant ainsi le développement des larves de guêpes (Asgari et al., 1996; Beckage and Gelman, 2004; Tanaka et al., 2000).

Par conséquent, le système guêpes-polydnavirus est une **symbiose obligatoire** au sein de laquelle le virus, en assurant le succès parasitaire de son hôte, garantit sa propre transmission via le génome de la guêpe (figure 1).

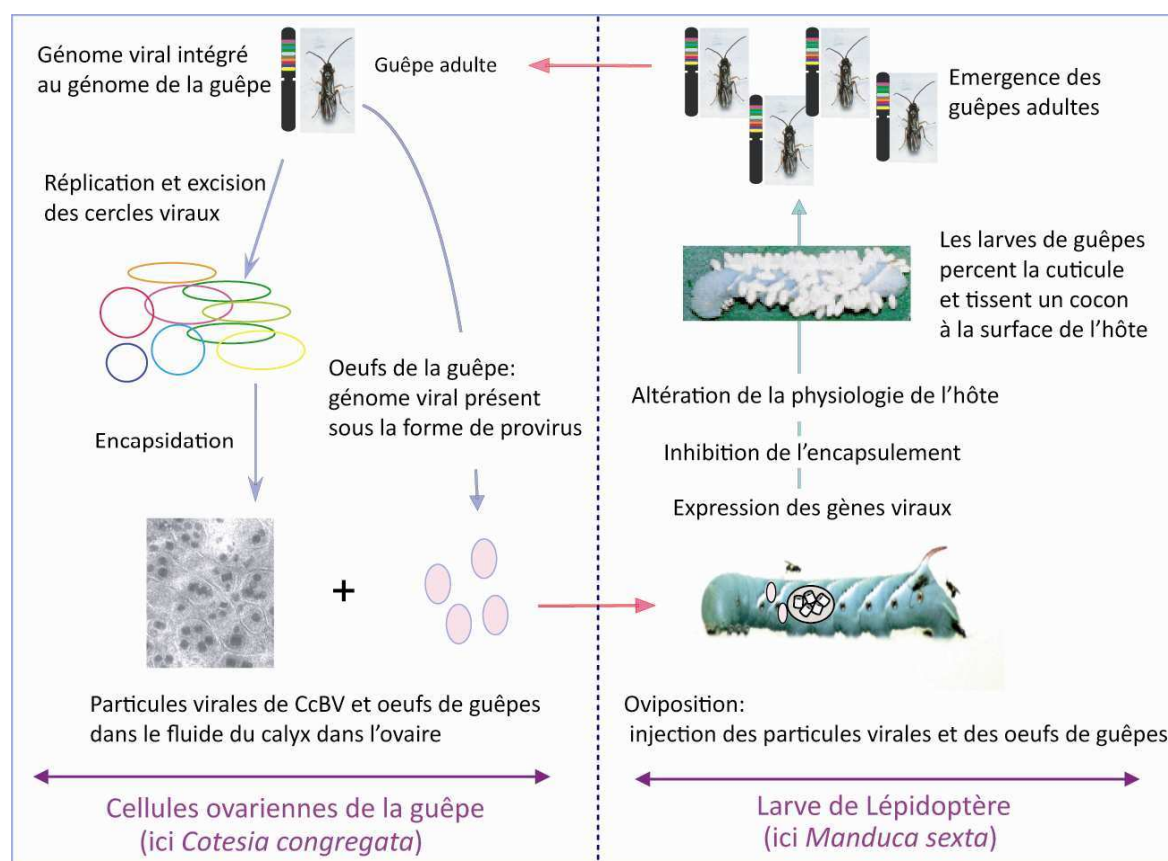


Figure 1 Cycle du polydnavirus et de la guêpe parasitoïde.

L'ADN viral intégré au génome de la guêpe (ici *Cotesia congregata*) est transmis verticalement sous forme de provirus. Dans les cellules ovariennes, la forme intégrée du virus est répliquée et excisée pour ensuite être encapsidée et former les particules virales. Lors de l'oviposition, les particules virales sont injectées en même temps que les œufs de guêpe. Les particules virales entrent alors dans les cellules hôtes où les gènes viraux sont exprimés. L'expression des gènes viraux inhibe la réponse immunitaire de l'hôte et assure le succès du parasitisme et la transmission du provirus à la descendance (D'après Dupuy *et al*, 2006).

Le fonctionnement de cette association ainsi que l'intime relation établie entre les partenaires suggèrent que la domestication du virus par la guêpe est totale. On peut ainsi supposer que le virus et la guêpe partagent une histoire évolutive commune. Whitfield (2003) a testé l'hypothèse d'une co-divergence chez six espèces de guêpes du genre *Cotesia* en utilisant un gène viral (CrV1) et deux gènes de guêpe (ADNr 16S et NADH). Cette étude révèle une co-phylogénie parfaite entre le virus et son hôte suggérant une évolution conjointe des partenaires de l'association. Cette étude permet, en outre, de montrer qu'au moins chez ce genre, le virus n'est pas transmis de manière horizontale.

Si cette étude reste à être confirmée en utilisant un plus grand nombre d'espèce, elle donne pour la première fois une perspective évolutive à l'intimité de la relation établie entre le virus et la guêpe.

3-Apparition du virus au cours de l'évolution des guêpes endoparasitoïdes

Les PDV sont connus chez plusieurs milliers d'espèces de guêpes de la super-famille des Ichneumonoidea. Sur la base de leur structure génomique et morphologique deux lignées virales sont distinguées : les **Ichnovirus** associés à des guêpes de la famille des Ichneumonidae et les **Bracovirus** associés à des guêpes de la famille des Braconidae. Les associations guêpe-PDV sont ainsi supposées être apparues à la suite de deux événements symbiotiques indépendants (Turnbull and Webb, 2002). Une troisième lignée de polydnavirus a récemment été décrite chez les guêpes de la sous famille des Banchinae et serait issue d'un troisième événement d'association symbiotique (Lapointe et al., 2007).

Les associations entre les guêpes Braconides et leur bracovirus sont les plus étudiées ; l'histoire évolutive des guêpes a fait l'objet de nombreuses études (Banks and Whitfield, 2006; Michel-Salzat and Whitfield, 2004; Murphy et al., 2008; Whitfield, 2002) et plusieurs génomes de Bracovirus sont complètement ou partiellement séquencés ((Choi et al., 2005; Desjardins et al., 2007; Gundersen-Rindal and Pedroni, 2006; Webb et al., 2006, Pennachio et al. non publié, Choi et al. non publié). Les bracovirus sont distribués dans six sous-familles de guêpes : les Cardiochilinae, les Microgastrinae, les Miracinae, les Khoikhoïnae, les Cheloninae et les Mendesellinae. L'ensemble de ces sous-familles forme un groupe monophylétique appelé complexe Microgastroïde dont l'âge est estimé à 103 millions d'années (Murphy et al., 2008) (Figure 2).

La **monophylie** des guêpes associées aux Bracovirus suggère qu'un seul événement associant une guêpe ancêtre à un virus ancêtre est à l'origine de la distribution actuelle du virus chez les guêpes Braconides (Whitfield, 2002). Parmi les Braconidae, la sous-famille des Microgastrinae, formée de 5000 à 10000 espèces (Mason, 1981) est caractérisée par une **diversification rapide**. Une telle expansion suggère que les guêpes ont subi une radiation adaptative, probablement liée à la diversification des espèces hôtes (Banks and Whitfield, 2006; Murphy et al., 2008).

Si les symbioses sont connues pour leur implication dans l'adaptation des espèces hôtes et si le rôle essentiel joué par les PDV dans le succès parasitaire de la guêpe est incontestable, la contribution du virus dans les **processus adaptatifs** de la guêpe n'a encore jamais été étudiée.

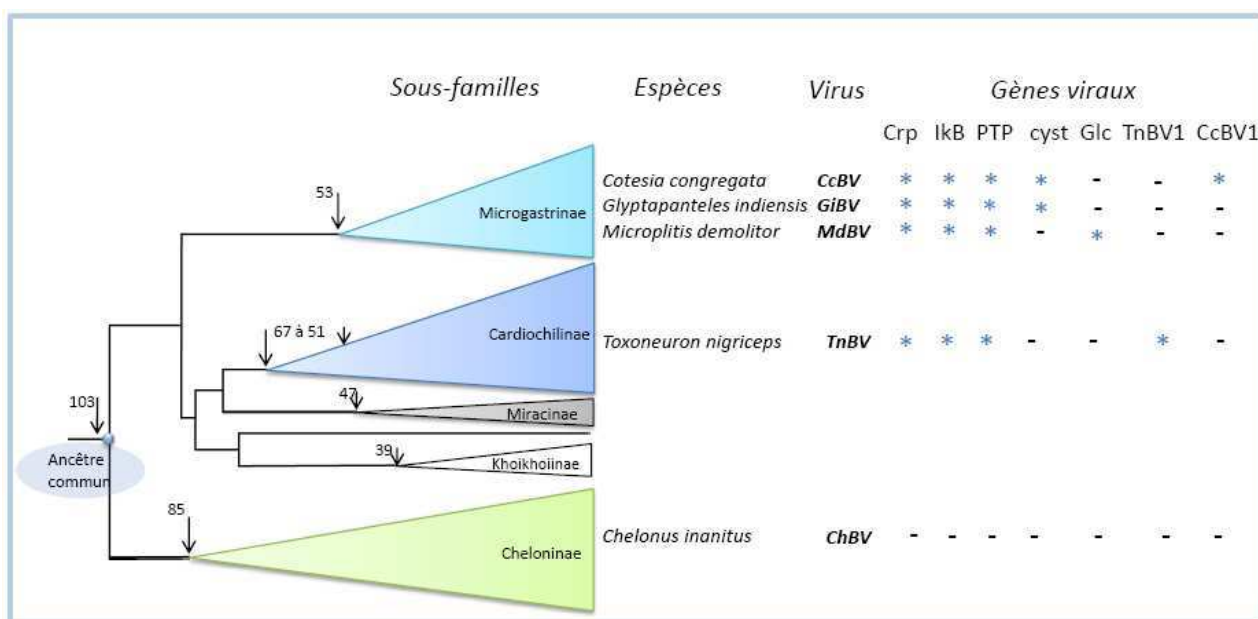


Figure 2 Représentation schématique de l'histoire évolutive du complexe Microgastroïde et de l'apparition des gènes viraux au cours de l'évolution.

Les dates (en millions d'années) indiquent l'apparition des sous-familles de guêpes (D'après Murphy, 2008). Une liste non exhaustive des gènes viraux montrent que certains gènes sont spécifiques de certaines lignées de bracovirus.

4- Effets physiologiques du virus chez l'hôte parasité

Les conséquences les plus évidentes du parasitisme sont le contrôle du développement et l'inhibition des défenses immunitaires de l'hôte Lépidoptère. Ces modifications sont liées à des bouleversements biochimiques et endocrines.

Effets du parasitisme sur le développement de l'hôte

Chez le Lépidoptère *Manduca sexta* par exemple, le développement larvaire se fait en 5 stades interrompus par 4 mues et au terme du 5ème stade larvaire la mue nymphale aboutit à la formation d'une chrysalide qui sera suivie de la métamorphose de la chenille en adulte. Le développement de la chenille parasitée est arrêté au stade L5 et la métamorphose est totalement inhibée. Les mues et la métamorphose des insectes sont sous la dépendance de plusieurs hormones : l'hormone prothoracique, les ecdystéroïdes et l'hormone juvénile. L'hormone prothoracique induit la production d'ecdystéroïdes qui interviennent dans les phénomènes de mue. La concentration de l'hormone juvénile par rapport à la concentration d'ecdystéroïde va déterminer les différents types de mues : mue larvaire, mue nymphale et mue imaginale (Nation, 2002). Chez *M. sexta*, au cours du cinquième stade larvaire, la diminution du taux d'hormone

juvénile corrélée à un faible taux d'hormone de mue entraîne la métamorphose (Riddiford et al., 2003).

Chez les chenilles de *M. sexta* injectées par du virus purifié, on observe une suppression partielle du pic pré-pupal des hormones prothoraciques et ecdystéroïdes. Cette suppression, combinée au maintien d'un taux élevé d'hormone juvénile sécrétée par les larves de guêpes empêche la mue pupale et maintient l'hôte au stade larvaire au cours du parasitisme (Beckage and Gelman, 2004; Beckage et al., 1994).

Effets du parasitisme sur les défenses de l'hôte

Lors de l'injection d'un œuf de parasitoïde ou de tout autre macro-organisme étranger, le nombre total d'hémocytes (cellules immunitaires chez les insectes) augmente dans l'hémolymphe (i.e Strand and Noda, 1991). Les hôtes immunocompétents éliminent les parasitoïdes ainsi que les macro-organismes par le mécanisme d'encapsulation, qui consiste en la formation d'une enveloppe formée de plusieurs couches d'hémocytes à la surface du corps étranger. Cette réaction implique 3 étapes : la reconnaissance, l'adhésion des hémocytes pour la formation de la capsule et l'élimination du parasitoïde (Strand and Pech, 1995a). Peu de temps après le début de l'encapsulation, des tâches brunes de mélanine apparaissent à la surface de l'œuf grâce à l'action de la phénoloxydase. Ce processus, appelé mélanisation est un phénomène local participant à la neutralisation de l'œuf grâce à la production de composés réactifs oxygénés et nitrés hautement toxiques (Nappi et al., 2005; Nappi and Vass, 1998).

Lors du parasitisme, l'injection du virus inhibe le processus de prolifération cellulaire des hémocytes et empêche ainsi l'encapsulation (Beck and Strand, 2003; Strand and Noda, 1991). En outre, il se produit des modifications de la composition de l'hémolymphe accompagnée de l'inactivation de la phénoloxydase qui joue un rôle clé dans le processus de mélanisation. (Otto Schmidt, 2001; Strand and Pech, 1995a).

Ainsi, le virus cible deux fonctions clés de la biologie de l'hôte : le système immunitaire et le développement et permet au parasitoïde de se développer dans l'hôte sans être éliminé.

5- Le génome des PDV : un cas atypique

Si les effets physiologiques du virus sur l'hôte Lépidoptère ont fait l'objet de nombreuses études, les mécanismes par lesquels le virus induit la dérégulation des fonctions physiologiques restaient encore mal connus. Afin d'aborder efficacement cette problématique, le séquençage de

la forme libre du virus et la caractérisation des fonctions codées et exprimées par les gènes viraux ont été entrepris.

L'analyse de ces génomes révèle que les polydnavirus font partie des virus dits « géants » avec une taille d'environ 570 et 240 Kbases chez CcBV et MdBV respectivement. Le génome du polydnavirus est segmenté en plusieurs cercles d'ADN double brins dont le nombre est variable suivant l'espèce et dont la taille varie d'un cercle à l'autre. Une particularité importante du génome des polydnavirus est la présence d'introns que l'on retrouve dans 6 à 14% des gènes viraux (Espagne et al., 2004; Webb et al., 2006) suivant les génomes. Étonnamment, le génome contenu dans les particules virales est presque totalement dépourvu de gènes homologues à des gènes viraux pouvant intervenir dans les processus de réplication ou coder des protéines de capsid.

En résumé, le génome des PDV ressemble plus à un génome eucaryote qu'à un virus classique, constatation qui a pendant plusieurs années contribué à remettre en question l'origine virale de la symbiose (Whitfield and Asgari, 2003). En effet, les caractéristiques du génome du PDV, proche de l'organisation des génomes eucaryotes, laissent penser que ces particules ne constituent finalement qu'un moyen habile de sécrétion, mis en place par la guêpe, pour introduire dans l'hôte ses propres gènes.

Cependant, par des approches de protéomique et de transcriptomique, réalisées à partir des ovaires de guêpes considérées où les particules sont produites, des gènes de PDV codant pour des protéines impliquées dans la réplication, la formation de la capsid et de l'enveloppe ont été isolés. Les gènes isolés présentent des similarités significatives avec des gènes de virus d'insecte appartenant à la famille des Nudiviridae (Bezier et al soumis). Cette découverte a permis de prouver l'origine virale des bracovirus et assure l'existence de l'intégration d'un virus libre dans le génome de la guêpe ancêtre.

Les polydnavirus constituent ainsi des virus très singuliers, et leur structure actuelle suggère qu'ils sont le résultat d'une longue évolution depuis leur intégration dans le génome de la guêpe ancêtre.

6- Les facteurs de virulence : une acquisition au cours du temps

Si le génome des particules virales ne contient pas de gène de structure virale « classique », ils codent cependant pour plusieurs facteurs de virulence potentiels dont la plupart sont organisés en familles multigéniques.

Au sein des Bracovirus, trois familles de gènes sont conservées et trouvées dans tous les génomes viraux étudiés (TnBV, MdBV, GiBV, CpBV et CcBV) (Figure 2).

Parmi ces familles, on trouve des gènes à motifs ankyrines appartenant à la famille des IκB, également présents chez l'Ichnovirus CsIV (Webb et al., 2006). Chez les vertébrés et les insectes, ces gènes codent des inhibiteurs de facteurs de transcription impliqués dans l'immunité (De Gregorio et al., 2001; Hoffmann, 2003). Des études sur l'activité de ces protéines mettent en évidence leur capacité à inhiber des facteurs de transcription de type NFκB, suggérant l'implication des protéines IκB des polydnavirus dans la régulation de la réponse immunitaire de l'hôte (Thoetkiattikul et al., 2005).

La seconde famille commune aux PDV, code pour des protéines riches en cystéines (CRP). Ces protéines seraient impliquées dans le détournement du métabolisme de l'hôte ainsi que dans la régulation du système immunitaire via l'inhibition partielle de l'encapsulement (Kim, 2005; Li and Webb, 1994).

Enfin la dernière famille partagée par les bracovirus code pour des protéines tyrosine phosphatase (PTP). Cette famille constitue la plus grande famille de gènes décrite chez les PDV avec 27 gènes chez CcBV (Espagne et al., 2004). Les PTP sont connues chez les vertébrés pour jouer un rôle majeur dans la régulation des voies de signalisation cellulaire en déphosphorylant les résidus de type tyrosine de protéines régulatrices (Andersen et al., 2001). Chez MdBV, certaines de ces protéines montrent une activité inhibitrice de l'adhésion cellulaire et de la phagocytose et peuvent ainsi jouer un rôle important dans la régulation du système immunitaire de l'hôte (Beck and Strand, 2003, 2005; Pruijssers and Strand, 2007; Suderman et al., 2008).

En dépit du peu de génomes viraux disponibles, nous pouvons supposer que ces gènes sont apparus tôt au cours de l'évolution de l'association. En effet, si chacun de ces gènes partagent avec les autres Bracovirus le même gène ancêtre, leur apparition précède la divergence entre les sous-familles des Microgastrinae et des Cardiochilinae qui s'est produite il y a plus de 67 millions d'années (Murphy et al., 2008).

Au contraire des ankyrines, des CRP et des PTP, certains gènes ne sont partagés que par un nombre restreint de virus associés à des espèces de guêpes apparues récemment (figure 2). C'est le cas par exemple des cystatines qui ne se retrouvent que chez GiBV et CcBV (Desjardins et al., 2007; Espagne et al., 2004). Les cystatines sont des protéines largement répandues dans le monde vivant mais les cystatines des PDV constituent la première description de cystatines virales. Les cystatines sont souvent décrites comme étant impliquées dans des interactions hôte-parasite mais leur rôle dans la symbiose est encore méconnu.

Le génome viral est donc formé de gènes codant pour des facteurs de virulence potentiels permettant le contrôle des fonctions physiologiques de l'hôte. Ces gènes ne présentent aucune signature virale et sont, au contraire, décrits dans des génomes cellulaires, suggérant qu'ils proviennent du génome de la guêpe. L'étude de plusieurs génomes viraux, associés à des guêpes apparues à différentes périodes évolutives, révèle que le génome viral actuel est le résultat de plusieurs événements d'acquisition de gènes qui se sont produits après l'établissement de la symbiose et de manière successive au cours l'évolution des lignées de guêpes (figure 3).

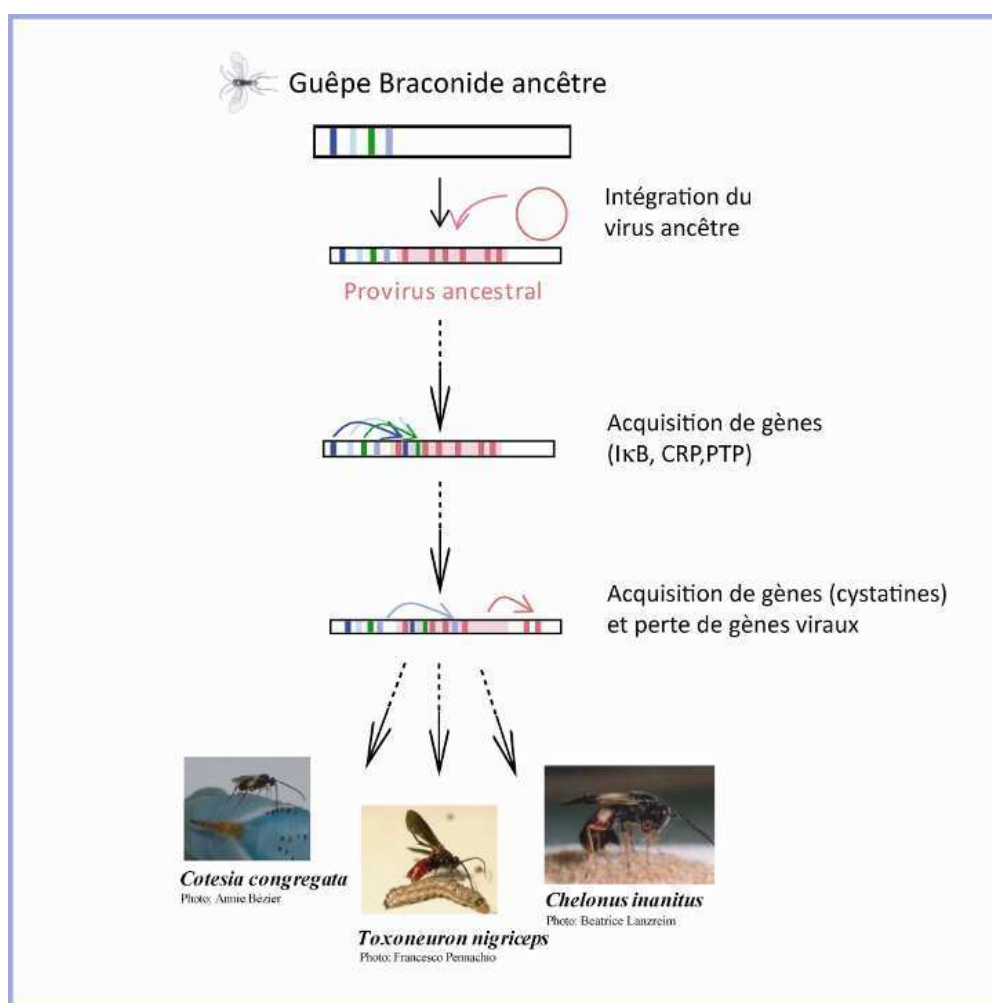


Figure 3 Un possible scénario évolutif de l'association polydnavirus guêpe braconide.

Après l'intégration du virus ancêtre dans le génome de la guêpe, le virus a progressivement acquis de nouveaux gènes, probablement depuis le génome de la guêpe. Plusieurs événements indépendants sont vraisemblablement à l'origine des gènes trouvés dans le génome viral. Inversement, des gènes viraux ont été perdus par le génome viral et transférés dans le génome de la guêpe (D'après Dupuy, 2006).

