



HAL
open science

Les Polydnavirus, un exemple unique de machinerie virale domestiquée par des insectes parasitoïdes.

Ange Lorenzi, Anne Nathalie Volkoff

► **To cite this version:**

Ange Lorenzi, Anne Nathalie Volkoff. Les Polydnavirus, un exemple unique de machinerie virale domestiquée par des insectes parasitoïdes.. *Virologie*, 2020, 24 (2), pp.113-125. 10.1684/vir.2020.0835 . hal-02974312

HAL Id: hal-02974312

<https://hal.inrae.fr/hal-02974312>

Submitted on 5 Jun 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Les Polydnavirus, un exemple unique de machinerie virale domestiquée par des insectes parasitoïdes

Polydnaviruses, a unique example of viral machinery domesticated by parasitoid wasps

Ange Lorenzi

Anne-Nathalie Volkoff

UMR Diversité génomes Interactions microorganismes insectes (DGIMI), Inrae 1333, Université de Montpellier, CC101, place Eugène Bataillon, Montpellier, France

Résumé. Les Polydnavirus illustrent un exemple unique d'interactions symbiotiques entre un virus et un organisme eucaryote. Ces sont des mutualistes obligatoires, associés à de nombreuses espèces d'hyménoptères parasitoïdes. Ils sont caractérisés par un génome encapsidé constitué de plusieurs molécules d'ADN et sont nécessaires à la réussite parasitaire. Les particules virales sont produites dans les ovaires à partir d'un corpus de séquences « virales » intégrées au génome de la guêpe. Les associations polydnavirus/guêpe telles qu'observées aujourd'hui résultent d'événements d'intégration de génomes viraux dans le génome des guêpes survenus au cours de l'évolution. Ces dernières années ont été marquées par la découverte des ancêtres viraux des deux types de Polydnavirus connus, les Bracovirus et les Ichnovirus, ce qui a permis d'éclairer en partie l'évolution de la symbiose. Une partie des gènes viraux a été conservée dans le génome du parasitoïde, permettant à ce dernier de produire des particules virales non répliquatives, car contenant un génome constitué essentiellement de gènes dits de « virulence », probablement d'origine insecte. Les Polydnavirus peuvent être considérés comme des éléments endogènes viraux (EVE) qui ont été domestiqués par la guêpe pour devenir au fil du temps une « arme » garantissant sa survie.

Mots clés : Polydnavirus, guêpe parasitoïde, virus endogène, symbiose mutualiste

Abstract. Polydnaviruses are unique mutualistic viruses associated with thousands of parasitoid wasps. They are characterized by a segmented packaged DNA genome and are necessary for parasitic success. Virus particles are produced in the wasp ovaries from a set of “viral” sequences integrated into the wasp genome. The polydnavirus/wasp associations as observed today result from the integration of a viral genomes into the wasp genome during evolution. Recent years have been marked by the discovery of the viral ancestors of the two known types of polydnavirus, bracovirus and ichnovirus, which has helped to shed some light on the evolution of the symbiosis. Some of the viral genes have been conserved in the genome of the parasitoid, allowing the latter to produce non-replicative viral particles, that contain DNA molecules encoding essentially “virulence” genes, probably of insect origin. Thus polydnaviruses can be considered as endogenous viral elements (EVE) that have been domesticated by the wasp to become a “weapon” allowing its survival.

Key words: polydnavirus, parasitoid wasp, endogenous virus, mutualistic symbiosis

Correspondant : A.-N. Volkoff
<anne-nathalie.volkoff@inrae.fr>

Les Polydnavirus (PDV) sont des virus atypiques de par leur génome, leur cycle de vie et leur origine évolutive. Associés à certaines familles de guêpes parasitoïdes, ils ont été décrits pour la première fois dans les années 1970 [1, 2]. Le génome encapsidé est composé de plusieurs molécules d'ADN double-brin circulaire [3-5]. Les particules sont produites exclusivement dans les ovaires de la guêpe, puis sont ensuite injectées lors de la ponte du parasitoïde dans son hôte, généralement une chenille. Dans l'hôte parasité, les PDV ne se répliquent pas mais infectent l'ensemble des tissus de l'hôte, ce qui conduit à l'expression des gènes de PDV, essentielle à la réussite parasitaire (figure 1). En raison des caractéristiques morphologique et génétique de ces virus, la famille *Polydnaviridae* a été formellement reconnue en 1991 par l'ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) [6].

À ce jour, les PDV ont été décrits uniquement chez des espèces d'hyménoptères appartenant aux familles des *Bracoonidae* et des *Ichneumonidae* [7, 8], chacune étant associée à un genre de PDV différent, les Bracovirus (BV) et les Ichnovirus (IV) respectivement [9]. Les BV seraient associés à plus de 50 000 espèces du complexe monophylétique

des « microgastroïdes » [10, 11]. Quant aux IV, ils ont été identifiés chez deux sous-familles d'ichneumonides, les *Campopleginae* et les *Banchinae*, et seraient produits par au moins 14 000 espèces [12].

La production de particules de PDV a lieu uniquement dans les cellules d'une région spécifique des ovaires de la guêpe, appelée le calyx (figure 2). Les nucléocapsides sont assemblées dans le noyau de ces cellules au niveau de stroma virogènes (régions denses aux électrons en microscopie électronique), où elles acquièrent une enveloppe dont l'origine reste à ce jour inconnue. Les virions formés dans le noyau sont ensuite libérés des cellules du calyx selon des étapes qui diffèrent entre BV et IV (figure 2). Les virions de BV s'accumulent dans le noyau, puis des lyses successives de l'enveloppe nucléaire et de la membrane plasmique vont permettre la libération des BV dans la lumière des oviductes [13]. *A contrario*, les nucléocapsides enveloppées des IV sortent du noyau par bourgeonnement au travers de l'enveloppe nucléaire ; elles rejoignent ensuite la partie apicale de la cellule et bourgeonnent au travers de la membrane plasmique, acquérant ainsi une deuxième enveloppe [14, 15]. IV et BV sont alors stockés dans la

Copyright © 2023 John Libbey Eurotext. Téléchargé par BIU DE MONTPELLIER le 05/06/2023.

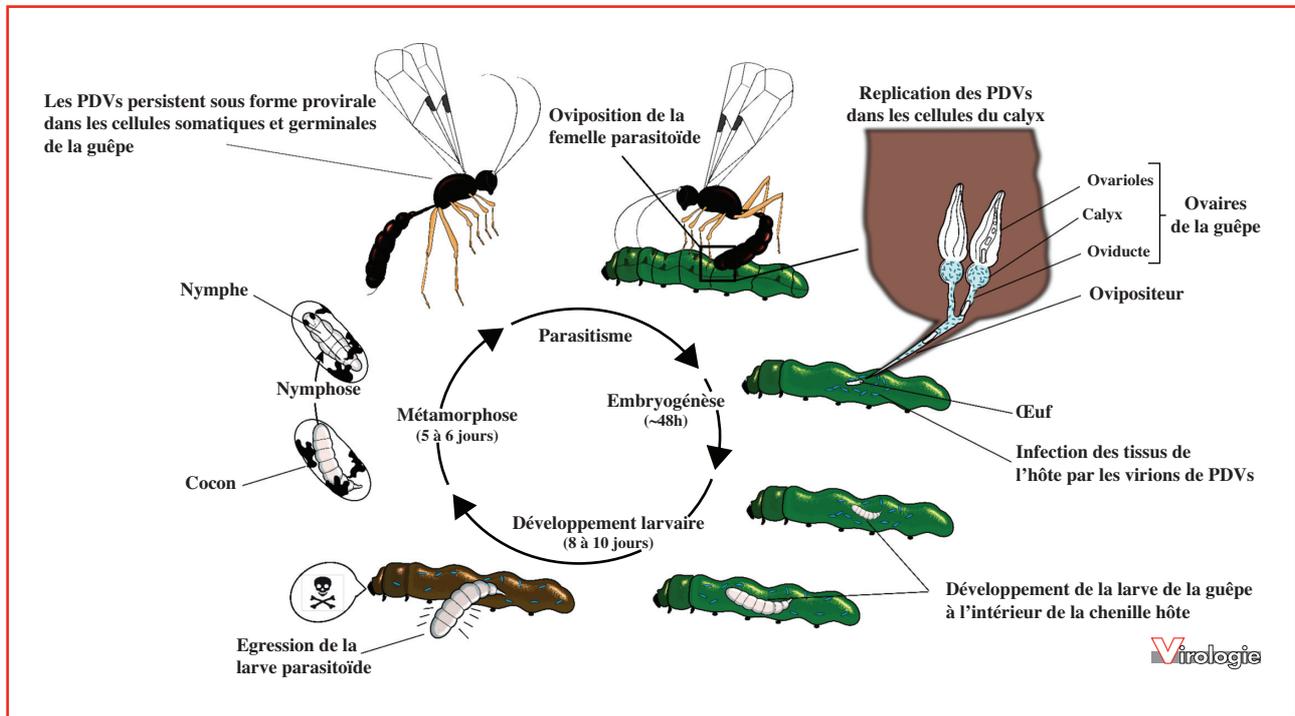
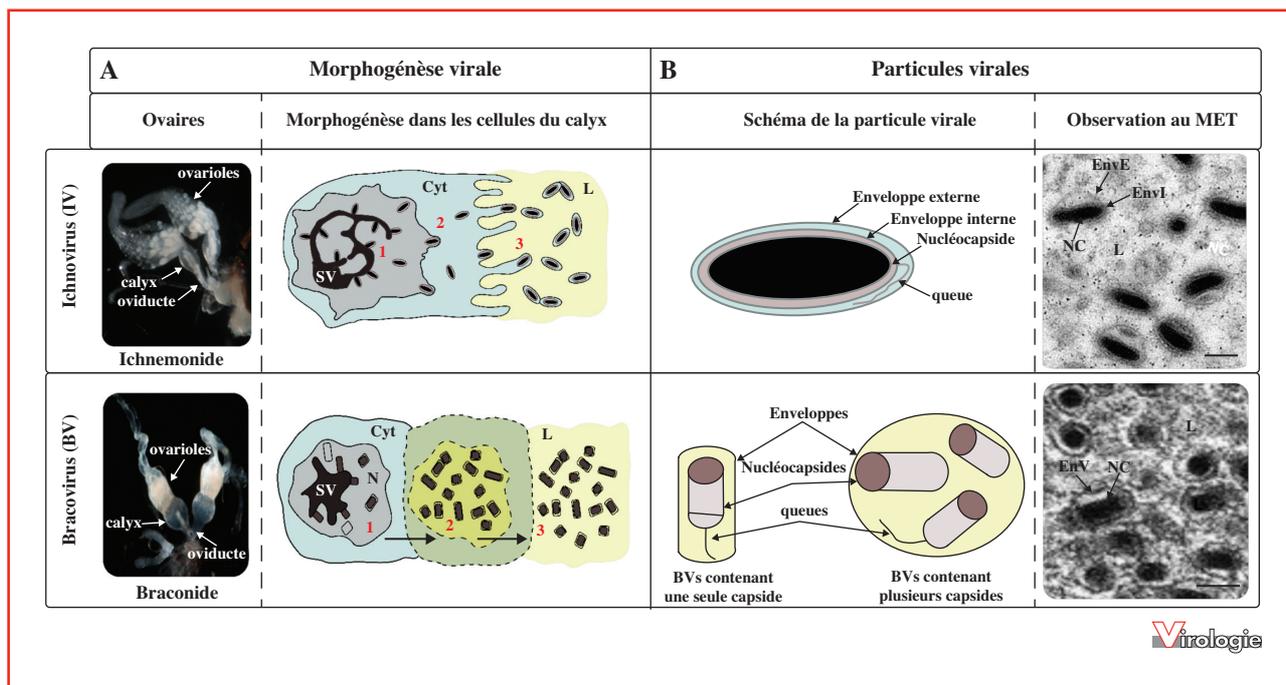


Figure 1. Cycle de vie des hyménoptères endoparasitoïdes associés à un polydnavirus (PDV). Les PDV sont produits dans les ovaires de la guêpe, ils s'accumulent dans les oviductes, puis sont injectés dans la chenille hôte par la femelle parasitoïde lorsque celle-ci pond son œuf. Les PDV infectent les tissus et les cellules de la chenille parasitée, l'infection garantissant la survie et la croissance de la progéniture de la guêpe. Une fois le développement de la larve parasitoïde terminé, cette dernière sort de la chenille hôte, puis tisse un cocon au sein duquel elle effectue sa nymphose. Une guêpe adulte émerge ensuite du cocon. La durée de chaque étape du développement du parasitoïde est indiquée.



Virologie

Figure 2. Formation des particules de Bracovirus et d'Ichnovirus. (A) Morphogénèse virale. Bracovirus (BV) et Ichnovirus (IV) se répliquent dans une région spécialisée des ovaires de la guêpe, le calyx (à gauche ; ovaires d'un Ichneumonide en haut ; d'un Braconide en bas). La morphogénèse des IV et des BV diffère. L'assemblage de la nucléocapside (NC) s'effectue dans les deux cas dans le noyau des cellules épithéliales du calyx, autour de stroma virogènes (SV). Les NC acquièrent une enveloppe dans le noyau (1). Ensuite, dans le cas des IV (en haut), la nucléocapside enveloppée bourgeonne au travers de la membrane nucléaire (2), puis migre vers la membrane plasmique où elle bourgeonne pour atteindre la lumière du calyx (3) au niveau de laquelle les virions matures s'accumulent. Dans le cas des BV (en bas), les NC enveloppées s'accumulent dans le noyau jusqu'à leur libération vers la lumière de l'oviducte par lyse successive de la membrane nucléaire (2) et plasmique (3). (B) Morphologie des particules virales. À gauche, représentation schématique des particules d'IV (en haut) et des deux types de particules de BV (en bas). À droite, coupes transversales de lumière de l'oviducte observées en microscopie électronique à transmission (MET), montrant des IV (en haut) et des BV (en bas) matures.

lumière de l'oviducte avec les œufs, prêts à être injectés lors de la ponte du parasitoïde dans son hôte. Les particules de BV renferment une ou plusieurs nucléocapsides de forme cylindrique (figure 2). Les nucléocapsides de BV ont une longueur variant entre 30 et 80 nm, pour 50 nm environ de diamètre, et chacune contient une seule molécule d'ADN [16, 17]. Les particules d'IV ont quant à elles une nucléocapside fusiforme d'environ 300 nm de longueur et 90 nm de diamètre (figure 2) ; la grande taille des nucléocapsides suggère qu'elles puissent contenir plusieurs molécules d'ADN [18], bien que ceci n'ait pas encore été formellement démontré. Le nombre de nucléocapsides contenues par virion est généralement d'un seul pour les IV associés aux guêpes de la sous-famille des *Campopleginae*, et de plusieurs¹ pour celles produites par des espèces de la sous-famille des *Banchinae* [19]. Très récemment, des virions contenant de multiples nucléocapsides

ponctiformes ont été décrits chez des espèces du genre *Bathyleptes* [20].

L'absence de réplication virale au sein de l'hôte parasité implique une transmission verticale du génome des PDV d'une génération à l'autre du parasitoïde [21], les séquences virales persistant sous forme intégrée dans le génome de la guêpe (provirus). Comme l'ont montré différents travaux effectués ces dernières années, les séquences intégrées de PDV diffèrent quant à leur nature et quant à leur rôle dans le cycle de vie du couple parasitoïde-PDV. Certaines séquences correspondent à des régions contenant des gènes impliqués dans la production des particules virales (figure 3), qui ne sont pas encapsidées au sein des virions [7, 22, 23]. Le second type de séquences correspond à des régions contenant les gènes dits « de virulence ». Ces régions sont amplifiées, excisées et circularisées par des mécanismes encore mal connus, puis encapsidées dans les virions sous forme de segments circulaires d'ADN double brin (figure 3). De ce fait, lors de la ponte du parasitoïde, ces gènes de virulence sont transférés dans

¹ Les images de coupes visualisées en microscopie électronique semblent indiquer entre 3 et 7 NC par virion.

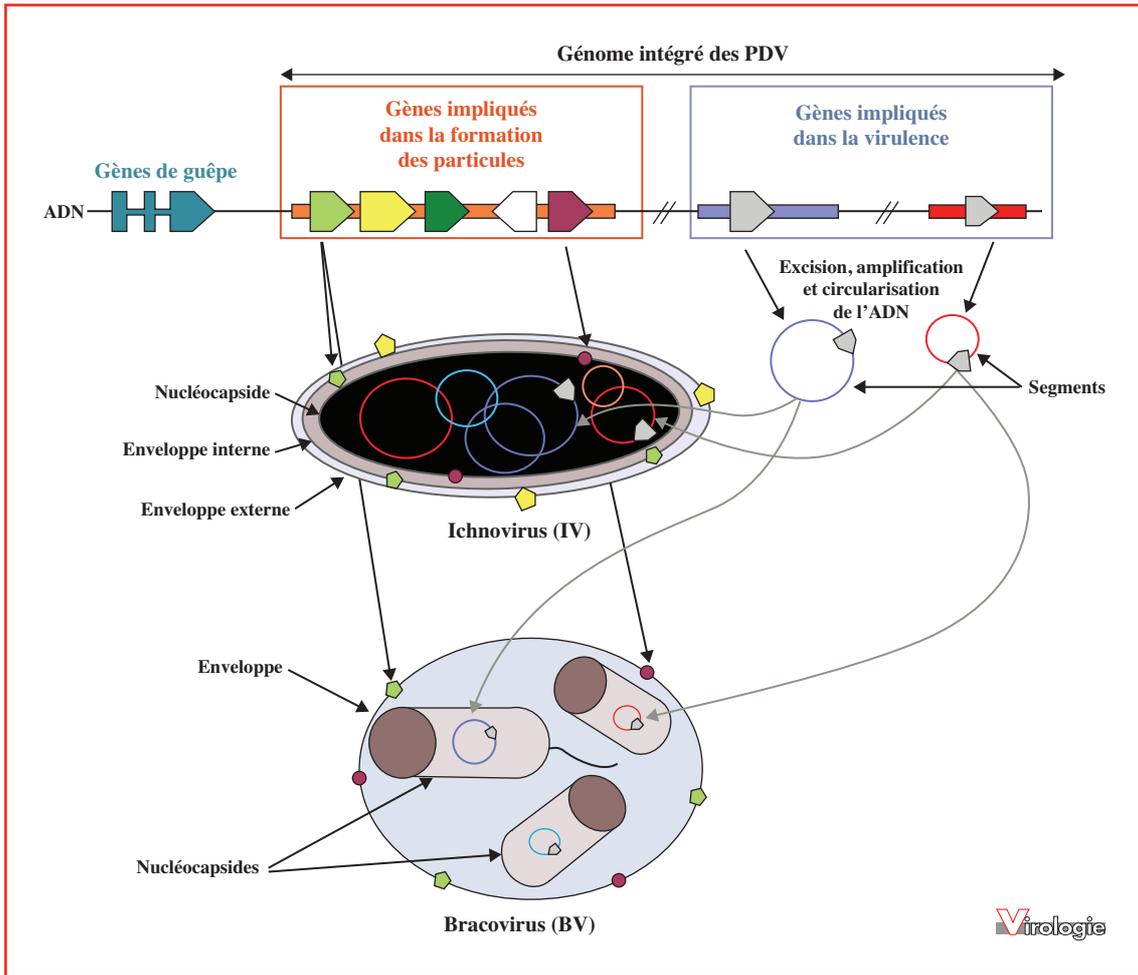


Figure 3. Représentation schématique d'un génome bipartite des PDV intégré au génome des guêpes parasitoïdes. Un des deux composants du génome intégré des PDV correspond aux gènes dérivant de l'ancêtre viral, majoritairement regroupés en cluster (encadré orange). Ces gènes incluent ceux dits « de structure » et ceux impliqués dans la réplication virale. Ces gènes/régions ne sont pas encapsidé(e)s dans les particules virales. Le deuxième composant correspond aux régions qui seront excisées et circularisées (segments) puis encapsidées (encadré bleu). Ces segments portent les gènes dits de "virulence", qui seront exprimés dans l'hôte lépidoptère au cours du parasitisme.

l'hôte lépidoptère, où ils s'expriment, garantissant ainsi la réussite parasitaire [7].

Caractéristiques et origine du génome encapsidé des Polydnavirus

La connaissance de la nature du matériel génétique encapsidé dans les particules de PDV remonte au milieu des années 2000, avec le séquençage de PDV associés à différentes espèces de guêpes parasitoïdes [15, 23-29]. Si leurs caractéristiques générales sont semblables, les génomes encapsidés de BV et IV diffèrent par leur taille (tableau 1) et par la nature des gènes qu'ils contiennent (tableau 2).

En ce qui concerne leur taille totale, les génomes séquencés de BV peuvent atteindre 740 kpb alors que les génomes d'IV avoisinent généralement les 250 kpb. Les BVs comprennent un nombre de segments génomiques globalement inférieur par rapport aux IV, mais de taille supérieure (tableau 1). Le plus grand nombre de segments est décrit pour les IV associés aux banchinés, pour lesquels il peut dépasser 100 [15, 28].

Les segments d'ADN encapsidés des PDV ont en commun un fort pourcentage de bases A/T et une faible proportion de séquences codantes (20-30 %) [29]. Ils codent un nombre important de gènes, généralement plus d'une centaine, incluant de nombreux gènes qui se sont diversifiés au travers d'événements de duplication. Ces gènes sont,

Tableau 1 Caractéristiques des génomes encapsidés de PDV séquencés [15, 23-28].

PDV	Taille totale (kpb)	Nombre de segments ADN	Taille des segments (kpb)	Nombre de gènes	Densité codante (% du génome)	% AT	Espèces séquencées
Bracovirus	190-740	15-35	3-51	61-220	17-33	64-66	<i>CcBV, CvBV, GiBV, GfBV, MdBV</i>
Ichnovirus de Campoplegine	200-250	24-56	2,5-20	100-150	22-30	57-59	<i>CsIV, TrIV, HdIV, HflIV</i>
Ichnovirus de Banchine	300	105-130	1-5	100-190	20	63	<i>GfIV, AsIV</i>

CcBV, *Cotesia congregata* bracovirus ; MdBV, *Microplitis demolitor* bracovirus ; CvBV, *Cotesia vestalis* bracovirus ; GiBV, *Glyptapanteles indiensis* bracovirus ; GfBV, *Glyptapanteles flavicoxis* bracovirus ; CsIV, *Campoletis sonorensis* ichnovirus ; TrIV, *Transonema rostrale* ichnovirus ; HdIV, *Hyposoter didymator* ichnovirus ; HflIV, *Hyposoter fugitivus* ichnovirus ; GfIV, *Glypta fumiferanae* ichnovirus ; AsIV, *Apophua simplicipes* ichnovirus.

Tableau 2 Liste des principales familles de gènes identifiées dans les génomes encapsidés des PDV séquencés. Certaines familles de gènes sont partagées par tous les génomes de PDV (en gris), d'autres sont retrouvées chez au moins 2 types de PDV (en bleu) ; une majorité sont des familles multigéniques spécifiques à un seul des types de PDV (en vert).

Familles de gènes	<i>BV</i>	<i>IV de Banchine</i>	<i>IV de Campoplegine</i>
<i>Viral ankyrin (V-ankyrin)</i>			
<i>Protein Tyrosine Phosphatase (PTP)</i>			
<i>Cys-motifproteins</i>			
<i>Repeat-element gene (Rep)</i>			
<i>Viral innexin (V-innexin)</i>			
<i>N-gene</i>			
<i>Polar-Residue Rich Proteins (PRRP)</i>			
<i>Cystatine</i>			
<i>CrV-1 like proteins</i>			
<i>Lectin like proteins</i>			
<i>NTP-ase like proteins</i>			

pour une grande part, organisés en familles multigéniques, certaines étant conservées au sein d'un même genre de PDV (tableau 2). Une famille de gènes est présente dans le génome de tous les PDV, il s'agit de la famille des ankyrines virales. Ces gènes codent des protéines caractérisées par la présence d'un domaine ankyrine ayant des similarités avec des IκB (inhibiteur du facteur de transcription NF-κB) d'insecte ; à ce jour, il n'est cependant pas déterminé si les ankyrines de BV et d'IV dérivent, ou non, d'un même

ancêtre [28]. L'autre famille partagée entre les BV et les IV associés aux banchinés (mais pas avec les IV de campopleginés) est celle codant des protéines tyrosine phosphatases (PTP, tableau 2).

Les gènes portés par le génome encapsidé des PDV ont pour la plupart des similarités avec des gènes eucaryotes, notamment des gènes d'insectes. Aucun de ces gènes ne présente d'homologie de séquence avec des gènes viraux « classiques » (*i.e.* impliqués dans la réplication, la

transcription ou l'assemblage de virus) [23-27]. Ces résultats ont conduit à l'hypothèse que ces gènes proviendraient pour partie des guêpes [30]. Différentes analyses comparatives et phylogénétiques menées sur ces virus révèlent qu'en effet, certains gènes acquis récemment dériveraient de guêpes [22, 31]. L'origine d'autres gènes, acquis de façon plus ancienne, probablement par transfert horizontal, reste inconnue [32-34].

Les PDV étant essentiels au succès parasitaire des parasitoïdes auxquels ils sont associés, il est probable que le génome encapsidé a été façonné spécifiquement dans le cas de chaque espèce de parasitoïde en fonction de son propre cycle de vie et de son spectre d'hôte, et qu'il ait subi des pressions de sélection au cours de l'évolution. Ceci expliquerait la grande variabilité du nombre de segments proviraux, les différents types de gènes de virulence, ou la grande diversification des gènes au sein des familles multigéniques observés chez les PDV [32, 34-36].

Rôle des gènes codés par le génome encapsidé

L'expression du génome encapsidé est responsable des nombreuses altérations physiologiques observées dans l'hôte parasité. En effet, le produit des gènes dits de « virulence » altère notamment l'immunité et le développement de l'insecte parasité, garantissant ainsi la survie et la croissance de la progéniture du parasitoïde [37, 38]. Les principaux effets des PDV sur la physiologie de l'hôte parasité décrits dans la littérature concernent l'inhibition de sa réponse immunitaire et une altération de son développement. La réponse immunitaire dirigée contre les parasitoïdes relève essentiellement de la réponse cellulaire, dont les hémocytes sont des acteurs majeurs. Ils interviennent notamment dans l'encapsulation, un processus qui permet d'éliminer des corps étrangers de grande taille tels que des œufs de parasitoïdes. L'infection par les PDV induit généralement une diminution du nombre d'hémocytes chez l'hôte parasité, ce qui permet au parasitoïde d'échapper à cette réponse immunitaire et de pouvoir se développer. D'autre part, les PDV sont capables d'altérer le développement de l'insecte parasité, afin que les apports nutritionnels que représente l'hôte soient adaptés au développement du parasitoïde.

Des études menées à partir des années 1990 ont permis d'identifier de nombreux gènes de PDV transcrits dans les hôtes parasités et ont contribué à la compréhension de leur rôle physiologique lors du parasitisme [39-42]. Cependant, la petite taille des guêpes, le caractère non répliatif (au sein de l'hôte lépidoptère) des particules de PDV, l'absence de

lignées cellulaires capables de produire des PDV, constituent autant de facteurs limitant l'étude génétique de ces virus. En effet, les méthodes classiquement employées en génétique et en virologie sont difficilement applicables à ces modèles biologiques, ce qui a limité et continue de limiter les études de caractérisation fonctionnelle des gènes identifiés dans les génomes encapsidés de PDV. Néanmoins, il existe plusieurs exemples de gènes de PDV intervenant dans la modification de l'immunité et/ou du développement de la chenille parasitée.

Un premier exemple est celui de la famille de gènes codant des ankyrines virales (V-ankyrines), commune à tous les PDV. Les V-ankyrines ont une similarité avec l'inhibiteur du facteur de transcription NF- κ B *cactus* (I κ B) de *Drosophila melanogaster* [43, 44], acteur majeur de la réponse immunitaire des insectes. NF- κ B est adressé au noyau lorsque les voies de l'immunité sont activées ; la translocation nucléaire de ce facteur induit l'expression d'un cocktail de peptides antimicrobiens (PAM) et d'autres molécules de l'immunité [45]. Plusieurs V-ankyrines de PDV ont été étudiées, révélant des effets divers, et non restreints à l'immunité, chez les insectes parasités. L'expression de V-ankyrines de BV et d'IV peut être corrélée à une inhibition de la synthèse de peptides antimicrobiens [46, 47] ou interférer avec le nombre ou la fonction des hémocytes en bloquant l'hématopoïèse (*i.e.* la production des hémocytes) [47], en altérant l'intégrité cellulaire des hémocytes [48], ou en induisant l'apoptose des hémocytes [49]. De plus, les V-ankyrines peuvent agir sur les taux hormonaux [50, 51] et ainsi perturber le développement de l'hôte parasité.

Une autre famille de gènes code des protéines tyrosine phosphatases (PTP). Cette famille de gènes est présente dans le génome de tous les BV séquencés mais également, et de façon surprenante, dans celui des IV associés aux banchinés [28]. Cette famille est parmi la plus représentée en termes de nombre de gènes chez les BV (jusqu'à 30 gènes) [23-27, 52]. Les PTP de BV interviendraient dans divers processus en lien avec le développement et l'immunité de l'hôte du parasitoïde [54-57]. Certaines réduisent, voire inactivent l'activité des hémocytes de l'hôte [54, 55], quand d'autres semblent induire leur apoptose [56, 57].

Les génomes de BV renferment également des gènes qui codent des protéines ayant des domaines lectines de type-C présentes chez les invertébrés et les mammifères [58-60]. Ces lectines de PDV sont exprimées dans les hémocytes et le corps gras des hôtes parasités, d'autres sont retrouvées à la surface des œufs du parasitoïde [58, 59]. Elles permettraient à l'œuf du parasitoïde d'échapper au système immunitaire de l'hôte, en masquant des sites de reconnaissance de l'œuf sur lesquels les hémocytes s'accrochent [60].

Finalement, citons la famille de gènes codant des innexines virales (V-innexines), spécifiques aux IV. Les produits

d'expression sont similaires aux innexines, des protéines constituant les jonctions communicantes ou « *gap junctions* » chez les invertébrés [61]. Les V-innexines sont exprimées dans les hémocytes de l'hôte parasité et peuvent s'associer avec les innexines de l'hôte pour créer des jonctions communicantes hétérologues mais fonctionnelles, qui pourraient altérer l'adhérence et la capacité des hémocytes à former une capsule cellulaire autour de la larve du parasitoïde [62].

Maintien chez les hôtes insectes du génome encapsidé

L'ADN correspondant aux segments retrouvés dans les particules est maintenu sous forme intégrée dans le génome du parasitoïde. Plusieurs travaux, menés notamment pour les BV, ont permis d'élucider l'organisation des séquences provirales dans le génome du parasitoïde, et les processus conduisant à l'amplification et l'encapsidation de l'ADN dans les virions [16, 63-66]. Ainsi, on sait aujourd'hui que la majorité des segments proviraux de BV sont regroupés en « macro-loci », où les segments sont organisés en tandem et séparés par des séquences qui ne sont pas encapsidées [23, 67-69]. Selon l'espèce de braconide, le nombre de loci et de segments peut varier ; on recense généralement une dizaine de loci viraux contenant de 1 à 18 segments [68, 69]. L'organisation des segments d'IV diffère de celle des segments de BV puisqu'ils sont pour la plupart intégrés de façon isolée et dispersée dans le génome de la guêpe [70]. Sous leur forme intégrée, les séquences des segments de BV comme d'IV sont délimitées de part et d'autre par des séquences répétées directes, appelées « DRJ » (*direct repeat junction*). Une seule copie de la répétition est retrouvée dans la forme circulaire des segments, indiquant que ces DRJ sont potentiellement les sites de recombinaison homologue qui conduiraient à la circularisation des segments [64]. Pour les BV, il a été montré que les DRJ contiennent toutes un tétramère AGCT qui pourrait être le site permettant de générer les molécules circulaires chez ce genre de PDV [68, 71, 72]. En revanche, les DRJ des segments d'IV sont de taille très variable, et aucune séquence conservée n'a pu être identifiée [70]. La différence d'architecture génomique entre les BV et les IV suggère donc que des mécanismes distincts régissent l'amplification des séquences virales et la production des molécules circulaires chez ces deux types de PDV.

Alors que l'intégration des séquences PDV dans le génome du parasitoïde est connue depuis les années 1990, le devenir de ces séquences dans l'hôte parasité n'a été élucidé que récemment. Le développement des larves parasitoïdes dans leur hôte dure plusieurs jours, période durant laquelle les

PDV restent actifs et continuent à être exprimés [27, 53, 73]. L'absence de réplication virale dans l'hôte lépidoptère a donc soulevé rapidement la question du maintien de l'ADN des PDV dans les cellules infectées.

Les premières études, conduites en cultures cellulaires, ont montré que des portions des segments viraux peuvent s'intégrer dans le génome des cellules de lépidoptères [74-76]. Plus récemment, des travaux ont permis de déceler des intégrations de segments de BV au niveau des chenilles parasitées [79, 80]. Ces études ont notamment montré que ces intégrations surviennent rapidement après l'infection et font intervenir un motif conservé : le domaine HIM pour « *Host Integration Motif* » [77, 78]. Ces résultats suggèrent un mécanisme d'intégration commun aux BV qui permettrait l'expression des gènes de virulence tout au long du parasitisme. Cette capacité des séquences de PDV à s'intégrer dans le génome de l'insecte parasité pourrait expliquer la découverte de gènes de BV fonctionnels dans le génome de certaines espèces de lépidoptères [79, 80]. Ainsi, une lectine de BV est présente dans le génome de *Spodoptera exigua*, où elle est exprimée ; son acquisition apporte un bénéfice à l'insecte puisqu'elle diminuerait le pouvoir pathogène des Baculovirus vis-à-vis du lépidoptère [79]. Il a été ainsi suggéré que les PDV pourraient avoir un rôle non négligeable dans l'évolution des génomes de lépidoptères en favorisant des transferts horizontaux de gènes, voir en apportant de nouvelles fonctions [80].

Pour conclure, si certains des gènes encapsidés sont d'origine inconnue, la majorité d'entre eux semblent être d'origine eucaryote. Aussi, au début des années 2000, ces données ont conduit l'ICTV à remettre en question l'appartenance des PDV aux virus [81].

Le génome non encapsidé, témoin d'un ancêtre viral des PDV

Pour répondre à la question de la nature virale des PDV, les chercheurs se sont intéressés à la morphogénèse de ces virus et aux gènes impliqués dans ce processus. Ainsi, des études du transcriptome du calyx, couplées à l'analyse protéomique de particules virales associées à différentes espèces de parasitoïdes permirent des découvertes majeures concernant l'ancêtre viral et la machinerie impliquée dans la production des PDV.

La machinerie virale à l'origine des Bracovirus

Les gènes impliqués dans la formation des particules de BV ont initialement été recherchés chez l'espèce *Cotesia congregata* [22]. L'analyse du transcriptome du calyx a permis d'identifier des gènes présents dans le génome de

la guêpe, exprimés spécifiquement dans les cellules répliquatives, et codant des protéines associées aux particules purifiées de CcBV (*C. congregata* bracovirus) [22]. Ces gènes présentent des homologies de séquence avec des gènes de Nudivirus, virus à ADN très proches phylogénétiquement et morphologiquement des virus d'insectes de la famille *Baculoviridae* (encadré). Des homologues des gènes nudiviraux décrits chez *C. congregata* ont ensuite été identifiés chez d'autres espèces de braconides associées à des BV telles que *Chelonus inanitus* [82] et *Microplitis demolitor* [83], montrant ainsi que cette machinerie nudivirale a été conservée chez les braconides produisant des BV. Dans le génome de la guêpe, la majorité des gènes nudiviraux sont regroupés dans un « cluster nudiviral », constitué de 20 gènes chez *M. demolitor* [69] et de 10 gènes chez *C. congregata* [22]. L'ordre des gènes au sein de ces clusters est conservé entre *M. demolitor* et *C. congregata*, deux espèces qui ont divergé il y a 53 Ma. Cette organisation en cluster pourrait avoir été conservée au sein des braconides en raison de son importance fonctionnelle en lien avec la formation des BV [69]. Ces gènes proviendraient donc de l'intégration d'un génome de Nudivirus au cours de l'évolution des parasitoïdes, dont une partie a été conservée. Notons que d'un point de vue morphologique, les virions de BV et de Nudivirus sont semblables, au point que les BV ont initialement été considérés comme un type particulier de Baculovirus [4].

Une large proportion des 31 gènes cœur de Nudivirus (encadré) a été retrouvée dans le génome des braconides *C. congregata*, *C. inanitus* et *M. demolitor* (figure 4). Par exemple, tous les gènes codant les sous-unités de l'ARN polymérase nudivirale (*lef-4*, *lef-8*, *lef-9* et *p47*), ainsi que des gènes dits de structure tels que *vp39* (protéine majeure de capsid) et les gènes *pif*, sont présents dans les génomes des guêpes. Les gènes *lef-4*, *lef-8*, *lef-9* et *p47* sont exprimés dès les premiers stades de la réplication des BV [22], alors que l'expression de *vp39* (protéine majeure de capsid) et de *pif* est plus tardive, ce qui est cohérent avec leur patron d'expression lors du cycle viral des Nudivirus pathogènes [34]. En revanche, aucun gène potentiellement impliqué dans la réplication de l'ADN n'a été identifié chez les guêpes, excepté une hélicase présente uniquement chez *M. demolitor* [83]. Ces résultats suggèrent que l'amplification de l'ADN proviral pourrait être sous le contrôle de la machinerie répliquative de l'ADN de la guêpe. Différents travaux soutiennent que les gènes d'origine nudivirale retrouvés chez les braconides ont conservé leur fonction ancestrale. Tout d'abord, des protéines similaires à celles formant la capsid et l'enveloppe des Nudivirus ont été détectées lors de l'analyse protéomique des particules de BV [22, 82, 93]. Des études fonctionnelles, menées par interférence ARN chez *M. demolitor*, ont ensuite validé cette hypothèse [93]. Par exemple, il a été montré que

Les Nudivirus (*Nudiviridae*)

Les Nudivirus sont des virus mono-enveloppé à ADN. Les nucléocapsides sont de forme cylindrique et renferment un génome d'ADN double brin circulaire, de taille comprise entre 100 kpb et 230 kpb, qui code en moyenne de 100 à 150 gènes [84].

Ces virus pathogènes d'arthropodes se répliquent dans le noyau des cellules de leurs hôtes. Ils infectent de nombreuses espèces d'insectes et sont transmis majoritairement par voie orale [84]. L'espèce *Helicoverpa zea nudivirius* (HzNV) infecte les tissus reproducteurs du lépidoptère *Helicoverpa zea*, et peut se transmettre entre individus par voie sexuelle ou se transmettre à la progéniture *via* la mère [85]. Dans certains cas, le génome nudiviral s'intègre dans le génome de l'hôte [86, 87].

Les Nudivirus sont morphologiquement très proches de certains Baculovirus et ont été historiquement considérés comme appartenant à la famille *Baculoviridae*. Il est aujourd'hui admis que les Nudivirus forment un groupe monophylétique, divisé en deux genres : *Alphanudivirus* et *Betanudivirus* [88]. Ils constituent un taxon sœur des Baculovirus dont ils ont divergé il y a plus de 300 Ma [89, 90].

Le génome des Nudivirus est composé de 31 gènes cœur (gènes retrouvés chez l'ensemble des représentants d'une famille virale donnée), dont 20 sont partagés avec les Baculovirus [91]. À l'inverse des Baculovirus, la biologie des Nudivirus n'a été que très peu étudiée. La fonction des gènes nudiviraux est déduite de celle des gènes de Baculovirus avec lesquels ils partagent des homologies. Le génome des Nudivirus contient notamment les gènes *pif* (*per os infectivity factor*), qui codent chez les Baculovirus des protéines d'enveloppe essentielles pour initier l'infection du tube digestif de leurs hôtes. Il contient également des gènes qui codent les sous-unités de l'ARN polymérase, enzyme qui est requise chez les Baculovirus pour l'expression des gènes tardifs, majoritairement des gènes de structure. Des études *in silico* ont montré que les Nudivirus utiliseraient le même motif de promoteur (TAAG) que les Baculovirus pour exprimer leurs gènes tardifs [92].

lef-4 et *lef-9*, deux gènes ayant des similarités avec ceux codant des sous-unités de l'ARN polymérase nudivirale, sont impliqués dans la transcription des gènes nudiviraux tardifs [93]. Ce travail a également mis en évidence un rôle des gènes *vlf-1* et *int-1*, contenant tous deux un motif d'intégrase nudivirale, dans l'excision et de la circulari-

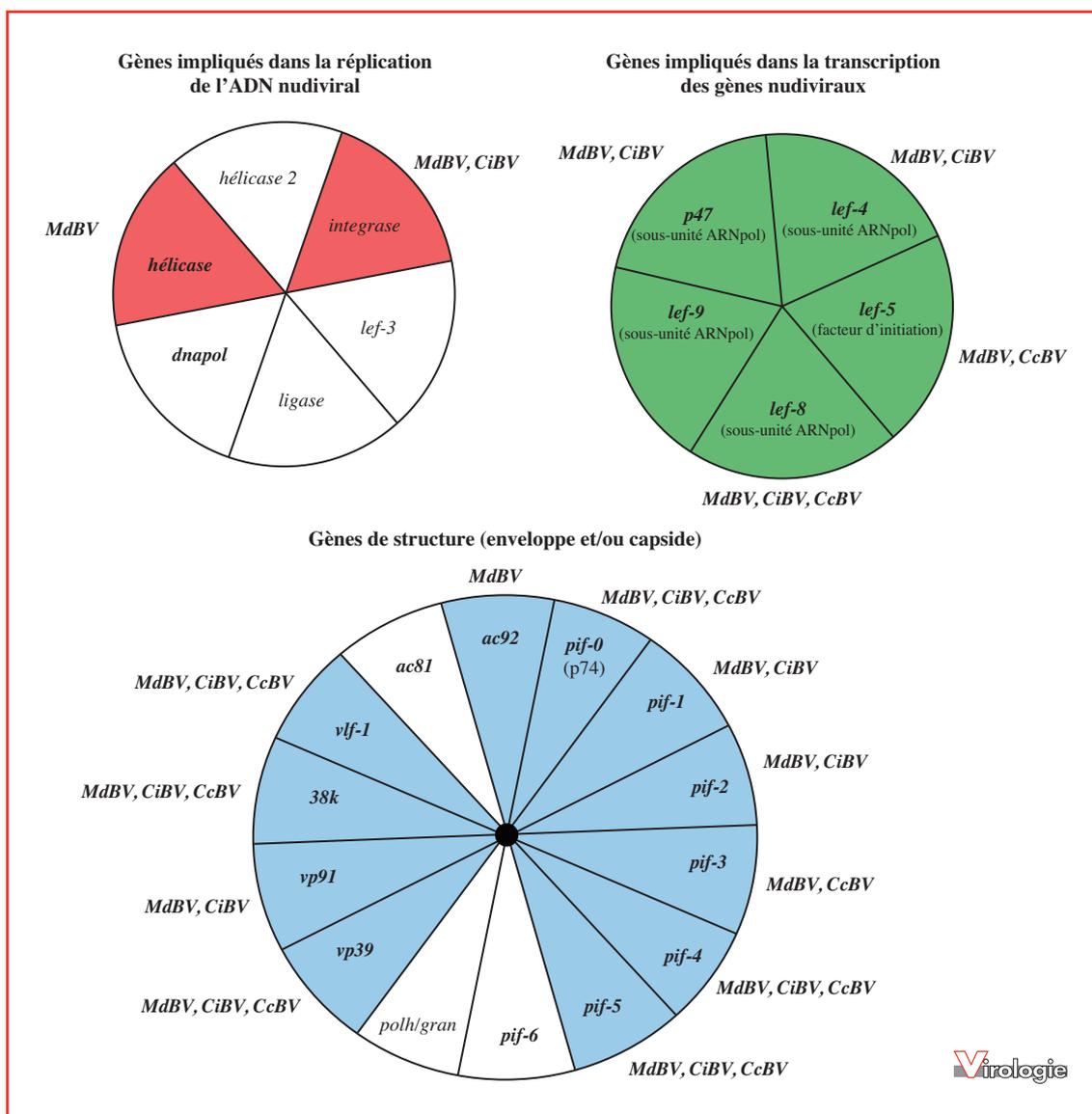


Figure 4. Gènes cœurs nudiviraux conservés dans les génomes de braconides associés à des BV. Sont indiqués les gènes appartenant à trois catégories fonctionnelles de gènes nudiviraux. Un total de 25 gènes cœur de nudivirus est présenté, dont 20 sont partagés avec les baculovirus (en gras). Les couleurs dans les trois diagrammes (rouge, vert et bleu) indiquent la présence du gène nudiviral dans au moins un des trois génomes de braconides ; la couleur blanche indique l'absence de ce gène.

sation des segments proviraux de *Microplitis demolitor bracovirus* (MdBV) [93].

L'ensemble de ces résultats apporte des preuves convaincantes quant à l'origine virale des BV et renseigne sur l'évolution de ces virus. Rappelons que les BV sont actuellement distribués exclusivement au sein d'espèces formant le groupe monophylétique des microgastroïdes. L'intégration d'un génome de nudivirus, plus précisément celle d'un betanudivirus [90], chez l'ancêtre commun de ces guêpes aurait eu lieu il y a 103 Ma [22, 89]. Cette

intégration a pu être facilitée par le fait que certains nudivirus infectent préférentiellement le système reproducteur de leurs hôtes [86], et sont également capables d'établir une infection persistante en s'intégrant dans le génome de leurs hôtes [87]. Cette infection persistante aurait donc pu atteindre la lignée germinale de l'ancêtre des microgastroïdes et se transmettre ensuite à sa progéniture. Cette intégration virale aurait alors été suivie de réarrangements génomiques, d'événements de duplication, de pertes de gènes, ce qui aurait conduit à la fragmentation du génome

des Bracovirus et à la distribution actuelle des BV au sein de ce complexe d'espèces.

La machinerie produisant les particules d'Ichnovirus

Une approche couplant analyse transcriptomique du calyx et analyse protéomique des particules virales a également permis d'identifier un ensemble de gènes potentiellement impliqués dans la formation des particules d'IV, d'abord pour des IV associés à un *Campopleginae* [94], puis pour un IV associé à un *Banchinae* [95]. Une cinquantaine de gènes a été identifiée pour chacune des deux espèces d'ichneumonides. Ces gènes sont regroupés dans le génome des deux espèces de guêpes parasitoïdes dans des « clusters » nommés IVSPER (pour « *IV structural protein encoding regions* »). Ces régions présentent des caractéristiques génomiques atypiques par rapport au reste du génome de la guêpe, les rapprochant plutôt de séquences virales (forte densité de séquences codantes, absence d'introns) [94]. Tous les gènes présents dans les IVSPER sont spécifiquement transcrits dans le calyx et environ deux tiers d'entre eux codent des protéines associées aux particules virales. L'ensemble des données suggère que les IVSPER dérivent d'un ancêtre viral des IV. Le fait que ces gènes aient été identifiés aussi bien chez un *Campopleginae* que chez un *Banchinae* suggère qu'ils dérivent d'un même événement d'intégration, ou de deux événements indépendants d'intégration de deux virus différents, mais apparentés [95]. Malheureusement, en raison du manque de similitudes entre les gènes identifiés dans le génome des ichneumonides et les gènes viraux connus, l'identité de l'ancêtre des IV reste à ce jour inconnue.

La comparaison des IVSPER des deux espèces hôtes appartenant chacune à une des 2 sous-familles d'ichneumonides montre que certains gènes sont partagés entre les deux familles, alors que d'autres semblent spécifiques [96]. Ainsi, 12 des 45 gènes identifiés chez le *Campopleginae Hyposoter didymator* sont spécifiques à cette espèce, et 42 des 68 gènes identifiés chez le *Banchinae Glypta fumiferanae* sont également spécifiques à cette espèce. Ceci suggère que les étapes de la domestication virale ont différé au cours de l'évolution des deux sous-familles. Comme pour les BV qui dérivent de nudivirus, les gènes retenus dans le génome des guêpes ichneumonides ont conservé des fonctions virales essentielles à la production de particules virales [97]. Nous avons ainsi montré, par une approche d'ARN interférence, que certains gènes d'*H. didymator* localisés dans les IVSPER sont impliqués dans l'assemblage et/ou le trafic cellulaire des virions d'IV [97]. Pour mieux comprendre la domestication d'un virus chez les parasitoïdes ichneumonides, il sera nécessaire d'identifier les fonctions de

l'ensemble des gènes IVSPER qui, pour l'instant, restent largement méconnues.

Conclusion

Depuis leur découverte, les Polydnavirus n'ont eu de cesse d'intriguer la communauté scientifique. Leur cycle de vie inhabituel, la dichotomie au niveau de leur génome en termes d'origine et de fonction, constituent autant de caractéristiques qui, encore aujourd'hui, posent question quant à l'intégration et au positionnement des PDV dans la classification des virus. Cependant, des preuves indiscutables concernant l'origine virale de la machinerie produisant ces virus étonnants ont été apportées à la fin des années 2000. Les Polydnavirus constituent un exemple unique d'intégration d'un génome viral au sein d'un génome eucaryote, le génome viral ayant été en partie conservé et en partie remanié pour permettre à la guêpe de produire des particules délivrant des gènes de virulence nécessaires à son succès reproducteur. Si le mystère de l'origine des PDV a été éclairci, de nombreuses questions subsistent. Par exemple, quels mécanismes permettent de réguler l'expression et la synthèse des PDV spécifiquement dans les ovaires de guêpes ? Quelle est l'origine des enveloppes formées dans le noyau des cellules du calyx ? De quelle manière ces génomes viraux ont-ils évolué après leur intégration ? Pourquoi certaines espèces de parasitoïdes apparentés à celles qui hébergent des PDV ne semblent pas associées à des virus, ou encore, dans quelle mesure les hyménoptères constituent-ils un environnement favorable à l'acquisition de génomes viraux ? Ces questions relevant de différents champs disciplinaires, tels que l'évolution des génomes ou la virologie, ouvrent de larges perspectives de recherche pour les années futures.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Rotheram S. Immune surface of eggs of a parasitic insect. *Nature* 1967 ; 214 : 700.
2. Vinson SB, Scott JR. Particles containing DNA associated with the oocyte of an insect parasitoid. *J Invert Pathol* 1975 ; 25 : 375-8.
3. Krell PJ, Stoltz DB. Unusual baculovirus of the parasitoid wasp *Apanteles melanoscelus*: isolation and preliminary characterization. *J Virol* 1979 ; 29 : 1118-30.
4. Stoltz DB, Vinson SB. Viruses and parasitism in insects. *Adv Vir Res* 1979 ; 24 : 125-71.
5. Krell PJ, Summers MD, Vinson SB. Virus with a multipartite superhelical DNA genome from the ichneumonid parasitoid *Campoletis sonorensis*. *J Virol* 1982 ; 43 : 859-70.

6. Francki RIB. Classification and nomenclature of viruses. Fifth report of the International Committee on Viruses. *Arch Virol* 1991 ; 2 : 450.
7. Strand MR, Burke GR. Polydnavirus-wasp associations: evolution, genome organization and function. *Curr Opin Virol* 2013 ; 3 : 587-94.
8. Fleming JGW, Summers MD. Polydnavirus DNA is integrated in the DNA of its parasitoid wasp host. *Proc Natl Acad Sci* 1991 ; 88 : 9770-4.
9. Strand MR, Burke GR. Polydnaviruses: from discovery to current insights. *Virology* 2015 ; 479 : 393-402.
10. Murphy N, Banks J, Whitfield C, Austin JB. Phylogeny of the parasitic microgastroid subfamilies (Hymenoptera: Braconidae) based on sequence data from seven genes, with an improved time estimate of the origin of the lineage. *Mol Phylogenet Evol* 2008 ; 47 : 378-95.
11. Rodriguez JJ, Fernandez-Triana JL, Smith AM, *et al.* Extrapolations from field studies and known faunas converge on dramatically increased estimates of global microgastroid parasitoid wasp species richness (Hymenoptera: Braconidae). *Insect Conserv Divers* 2013 ; 6 : 530-6.
12. Webb BA, Strand MR. The biology and genomics of polydnaviruses. *Compr Mol Insect Sci* 2005 ; 6 : 393-402.
13. Wyler T, Lanzrein B. Ovary development and polydnavirus morphogenesis in the parasitic wasp *Chelonus inanitus*. II. Ultrastructural analysis of calyx cell development, virion formation and release. *J Gen Virol* 2003 ; 84 : 1151-63.
14. Volkoff AN, Ravallec M, Bossy JP, *et al.* The replication of *Hyposoter didymator* polydnavirus: cytopathology of the calyx cells in the parasitoid. *Biol Cell* 1995 ; 83 : 1-13.
15. Djoumad A, Stoltz D, Beliveau C, Boyle B, Kuhn L, Cusson M. Ultrastructural and genomic characterization of a second banchine polydnavirus confirms the existence of shared features within this ichnovirus lineage. *J Gen Virol* 2013 ; 94 : 1888-95.
16. Albrecht U, Wyler T, Pfister-Wilhelm R, *et al.* Polydnavirus of the parasitic wasp *Chelonus inanitus* (Braconidae): characterization, genome organization and time point of replication. *J Gene Virol* 1994 ; 75 : 3353-63.
17. Beck MH, Inman RB, Strand MR. Microplitis demolitor bracovirus genome segments vary in abundance and are individually packaged in virions. *Virology* 2007 ; 359 : 179-89.
18. Kroemer JA, Webb BA. Polydnavirus genes and genomes: emerging gene families and new insights into polydnavirus replication. *Annu Rev Entomol* 2004 ; 49 : 431-56.
19. Cusson M, Stoltz D, Lapointe R, *et al.* Genomics of banchine ichnoviruses: insights into their relationship to bracoviruses and campoplegine ichnoviruses. *Parasit Virus* 2012 ; 6 : 79-87.
20. Robin S, Ravallec M, Frayssinet M, *et al.* Evidence for an ichnovirus machinery in parasitoids of coleopteran larvae. *Vir Res* 2019 ; 263 : 189-206.
21. Stoltz DB. Evidence for chromosomal transmission of polydnavirus DNA. *J Gen Virol* 1990 ; 71 : 1051-6.
22. Bézier A, Annaheim M, Herbiniere J, *et al.* Polydnaviruses of braconid wasps derive from an ancestral nudivirus. *Science* 2009 ; 323 : 926-30.
23. Desjardins CA, Gundersen-Rindal DE, Hostetler JB, *et al.* Comparative genomics of mutualistic viruses of *Glyptapanteles* parasitic wasps. *Genome Biol* 2008 ; 9 : R183.
24. Espagne E, Dupuy C, Huguet E, *et al.* Genome sequence of a polydnavirus: insights into symbiotic virus evolution. *Science* 2004 ; 306 : 286-99.
25. Webb BA, Strand MR, Dickey SE, *et al.* Polydnavirus genomes reflect their dual roles as mutualists and pathogens. *Virology* 2006 ; 347 : 160-74.
26. Tanaka K, Lapointe R, Barney WE, *et al.* Shared and species-specific features among ichnovirus genomes. *Virology* 2007 ; 363 : 26-35.
27. Chen YF, Gao F, Ye XQ, *et al.* Deep sequencing of *Cotesia vestalis* bracovirus reveals the complexity of a polydnavirus genome. *Virology* 2011 ; 414 : 42-50.
28. Lapointe R, Tanaka K, Barney WE, *et al.* Genomic and morphological features of a banchine polydnavirus: comparison with bracoviruses and ichnoviruses. *J Virol* 2007 ; 81 : 6491-501.
29. Gundersen-Rindal D, Dupuy C, Huguet E, Drezen JM. Parasitoid polydnaviruses: evolution, pathology and applications. *Biocontrol Sci Technol* 2013 ; 23 : 1-61.
30. Stoltz D, Krell P. The origins and early history of polydnavirus research. *Parasit Virus Symbionts Pathog* 2012 ; 1 : 5-13.
31. Burke GR, Strand MR. Systematic analysis of a wasp parasitism arsenal. *Mol Ecol* 2014 ; 23 : 890-901.
32. Huguet E, Serbielle C, Moreau JM. Evolution and origin of polydnavirus virulence genes. *Parasit Virus Symbionts Pathog* 2012 ; 5 : 63-78.
33. Herniou EA, Huguet E, Theze J, Bezier A, Periquet G, Drezen JM. When parasitic wasps hijacked viruses: genomic and functional evolution of polydnaviruses. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2013 ; 368 : 20130051.
34. Burke GR, Strand MR. Polydnaviruses of parasitic wasps: domestication of viruses to act as gene delivery vectors. *Insects* 2012 ; 3 : 91-119.
35. Serbielle C, Dupas S, Perdureau E, *et al.* Evolutionary mechanisms driving the evolution of a large polydnavirus gene family coding for protein tyrosine phosphatases. *BMC Evol Biol* 2013 ; 12 : 253.
36. Gauthier J, Drezen JM, Herniou EA. The recurrent domestication of viruses: major evolutionary transitions in parasitic wasps. *Parasitology* 2018 ; 145 : 713-23.
37. Kaeslin M, Pfister-Wilhelm R, Lanzrein B. Influence of the parasitoid *Chelonus inanitus* and its polydnavirus on host nutritional physiology and implications for parasitoid development. *J Insect Physiol* 2005 ; 51 : 1330-9.
38. Strand MR. Polydnavirus gene products that interact with the host immune system. *Parasitoid Virus* 2012 ; 12 : 149-61.
39. Strand MR, Noda T. Alterations in the haemocytes of *Pseudoplusia includens* after parasitism by *Microplitis demolitor*. *J Insect Physiol* 1991 ; 37 : 839-50.
40. Li X, Webb BA. Apparent functional role for a cysteine-rich polydnavirus protein in suppression of the insect cellular immune response. *J Virol* 1994 ; 68 : 7482-9.
41. Asgari S, Hellers M, Schmidt O. Host haemocyte inactivation by an insect parasitoid: transient expression of a polydnavirus gene. *J Gen Virol* 1996 ; 77 : 2653-62.
42. Johner A, Lanzrein B. Characterization of two genes of the polydnavirus of *Chelonus inanitus* and their stage-specific expression in the host *Spodoptera littoralis*. *J Gen Virol* 2002 ; 83 : 1075-85.
43. Kroemer JA, Webb BA. Ikappabeta-related vankyrin genes in the *Campoplex sonorensis* ichnovirus: temporal and tissue-specific patterns of expression in parasitized *Heliothis virescens* lepidopteran hosts. *J Virol* 2005 ; 79 : 7617-28.
44. Falabella P, Varricchio P, Provost B, *et al.* Characterization of the I κ B-like gene family in polydnaviruses associated with wasps belonging to different Braconid subfamilies. *J Gen Virol* 2007 ; 88 : 92-104.
45. De Gregorio E, Spellman PT, Tzou P, Rubin GM, Lemaitre B. The toll and Imd pathways are the major regulators of the immune response in *Drosophila*. *EMBO* 2002 ; 21 : 2568-79.
46. Bitra K, Suderman R, Strand MR. Polydnavirus Ank proteins bind NF- κ B homodimers and inhibit processing of Relish. *PLoS Pathog* 2012 ; 8 : e1002722.

47. Gueguen G, Kalamarz ME, Ramroop J, Uribe J, Govind S. Polydnal viral ankyrin proteins aid parasitic wasp survival by coordinate and selective inhibition of hematopoietic and immune NF-kappa B signaling in insect hosts. *PLoS Pathog* 2013 ; 9 : e1003580.
48. Duchi S, Cavaliere V, Fagnocchi L, *et al.* The impact on microtubule network of a bracovirus IkB-like protein. *Cell Mol Life Sci* 2010 ; 67 : 1699-712.
49. Salvia R, Grossi G, Amoresano A, *et al.* The multifunctional polydnal virus TnBVANK1 protein: impact on host apoptotic pathway. *Sci Rep* 2017 ; 7 : 11775.
50. Ignesti M, Ferrara R, Romani P, *et al.* A polydnal virus-encoded ANK protein has a negative impact on steroid genesis and development. *Insect Bioch Mol Biol* 2018 ; 95 : 26-32.
51. Di Lelio I, Caccia S, Coppola M, *et al.* A virulence factor encoded by a polydnal virus confers tolerance to transgenic tobacco plants against lepidopteran larvae, by impairing nutrient absorption. *PLoS One* 2014 ; 9 : e113988.
52. Provost B, Varricchio P, Arana E, *et al.* Bracoviruses contain a large multigene family coding for protein tyrosine phosphatases. *J Virol* 2004 ; 78 : 13090-103.
53. Gundersen-Rindal DE, Pedroni MJ. Characterization and transcriptional analysis of protein tyrosine phosphatase genes and an ankyrin repeat gene of the parasitoid *Glyptapanteles indiensis* polydnal virus in the parasitized host. *J Gen Virol* 2006 ; 87 : 311-22.
54. Pruijssers AJ, Strand MR. PTP-H2 and PTP-H3 from *Microplitis demolitor* bracovirus localize to focal adhesions and are antiphagocytic in insect immune cells. *J Virol* 2007 ; 81 : 1209-19.
55. Nalini M, Kim YA. Putative protein translation inhibitory factor encoded by *Cotesia plutellae* bracovirus suppresses host hemocyte-spreading behavior. *J Insect Physiol* 2007 ; 53 : 1283-92.
56. Strand MR, Pech LL. Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. *Ann Rev Entomol* 1995 ; 40 : 31-56.
57. Suderman RJ, Pruijssers AJ, Strand MR. Protein tyrosine phosphatase-H2 from a polydnal virus induces apoptosis of insect cells. *J Gen Virol* 2008 ; 89 : 1411-20.
58. Glatz R, Schmidt O, Asgari S. Characterization of a novel protein with homology to C-type lectins expressed by the *Cotesia rubecula* bracovirus in larvae of the lepidopteran host, *Pieris rapae*. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 19743-50.
59. Lee S, Nalini M, Kim Y. A viral lectin encoded in *Cotesia plutellae* bracovirus and its immunosuppressive effect on host hemocytes. *Comp Biochem Phys* 2008 ; 149 : 351-61.
60. Nalini M, Choi JY, Je YH, Hwang I, Kim Y. Immunoevasive property of a polydnal virus product. CpBV-lectin, protects the parasitoid egg from hemocytic encapsulation of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *J Insect Physiol* 2008 ; 54 : 1125-31.
61. Hasegawa DK, Turnbull MW. Recent findings in evolution and function of insect innexins. *FEBS Lett* 2014 ; 588 : 1403-10.
62. Marziano NK, Hasegawa DK, Phelan P, Turnbull MW. Functional interactions between polydnal virus and host cellular innexins. *J Virol* 2011 ; 85 : 10222-9.
63. Xu D, Stoltz D. Polydnal virus genome segment families in the ichneumonid parasitoid *Hyposoter fugitivus*. *J Virol* 1993 ; 67 : 1340-9.
64. Cui L, Webb BA. Homologous sequences in the *Campoletis sonorensis* polydnal virus genome are implicated in replication and nesting of the W segment family. *J Virol* 1997 ; 71 : 8504-13.
65. Gruber A, Stettler P, Heiniger P, Schumperli D, Lanzrein B. Polydnal virus DNA of the braconid wasp *Chelonus inanitus* integrated in the wasp's genome and excised only in later pupal and adult stages of the female. *J Gen Virol* 1996 ; 77 : 2873-9.
66. Pasquier-Barre F, Dupuy C, Huguet E, *et al.* Polydnal virus replication: the EP1 segment of the parasitoid wasp *Cotesia congregata* is amplified within a larger precursor molecule. *J Gen Virol* 2002 ; 83 : 2035-45.
67. Desjardins CA, Gundersen-Rindal DE, Hostetler JB, *et al.* Structure and evolution of a proviral locus of *Glyptapanteles indiensis* bracovirus. *BMC Microbiol* 2007 ; 7 : 61.
68. Bézier A, Louis F, Jancek S, *et al.* Functional endogenous viral elements in the genome of the parasitoid wasp *Cotesia congregata*: insights into the evolutionary dynamics of bracoviruses. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2013 ; 368 : 20130047.
69. Burke GR, Walden KK, Whitfield JB, Robertson HM, Strand MR. Widespread genome reorganization of an obligate virus mutualist. *PLoS Genet* 2014 ; 10 : e1004660.
70. Legeai F, Santos BF, Robin S, *et al.* Conserved and specific genomic features of endogenous polydnal viruses revealed by whole genome sequencing of two ichneumonid wasps. *BioRxiv* [preprint]. 2019. [posted 2019 Dec 2]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/861310v1>
71. Savary S, Beckage N, Tan F, Periquet G, Drezen JM. Excision of the polydnal virus chromosomal integrated EP1 sequence of the parasitoid wasp *Cotesia congregata* (Braconidae, Microgastinae) at potential recombinase binding sites. *J Gen Virol* 1997 ; 78 : 3125-34.
72. Annaheim M, Lanzrein B. Genome organization of the *Chelonus inanitus* polydnal virus: excision sites, spacers and abundance of proviral and excised segments. *J Gen Virol* 2007 ; 88 : 450-7.
73. Espagne E, Douris V, Lalmanach G, *et al.* A virus essential for insect host-parasite interactions encodes cystatins. *J Virol* 2005 ; 79 : 9765-76.
74. Volkoff AN, Rocher J, Cérutti P, *et al.* Persistent expression of a newly characterized *Hyposoter didymator* polydnal virus gene in long-term infected lepidopteran cell lines. *J Gen Virol* 2001 ; 82 : 963-9.
75. Gundersen-Rindal DE, Lynn DE. Polydnal virus integration in lepidopteran host cells *in vitro*. *J Insect Physiol* 2003 ; 49 : 453-62.
76. Doucet D, Levasseur A, Béliveau C, Lapointe R, Stoltz D, Cusson M. *In vitro* integration of an ichnovirus genome segment into the genomic DNA of lepidopteran cells. *J Gen Virol* 2007 ; 88 : 105-13.
77. Beck MH, Zhang S, Bitra K, Burke GR, Strand MR. The encapsidated genome of *Microplitis demolitor* bracovirus integrates into the host *Pseudoplusia includens*. *J Virol* 2011 ; 85 : 11685-96.
78. Chevignon G, Periquet G, Gyapay G, *et al.* *Cotesia congregata* bracovirus circles encoding PTP and Ankyrin genes integrate into the DNA of parasitized *Manduca sexta* hemocytes. *J Virol* 2018 ; 92 : e00438-518.
79. Gasmi L, Boulain H, Gauthier J, *et al.* Recurrent domestication by Lepidoptera of genes from their parasites mediated by bracoviruses. *PLoS Genet* 2015 ; 11 : e1005470.
80. Drezen JM, Gauthier J, Josse T, Bézier A, Herniou EA, Huguet E. Foreign DNA acquisition by invertebrate genomes. *J Invert Pathol* 2017 ; 147 : 157-68.
81. Federici BA, Bigot Y. Origin and evolution of polydnal viruses by symbiogenesis of insect DNA viruses in endoparasitic wasps. *J Insect Physiol* 2003 ; 49 : 419-32.
82. Wetterwald C, Roth T, Kaeslin M, *et al.* Identification of bracovirus particle proteins and analysis of their transcript levels at the stage of virion formation. *J Gen Virol* 2010 ; 91 : 2610-9.
83. Burke GR, Strand MR. Deep sequencing identifies viral and wasp genes with potential roles in replication of *Microplitis demolitor* bracovirus. *J Virol* 2012 ; 86 : 3293-306.
84. Williams T, Bergoin M, van Oers MM. Diversity of large DNA viruses of invertebrates. *J Invert Pathol* 2017 ; 147 : 4-22.
85. Burand JP, Ralliss CP. *In vivo* dose-response of insects to Hz-2V infection. *Virol J* 2004 ; 1 : 15.

86. Burand JP, Kim W, Afonso CL, *et al.* Analysis of the genome of the sexually transmitted insect virus *Helicoverpa zea* nudivirus 2. *Viruses* 2012 ; 4 : 28-61.
87. Wu YL, Wu CP, Lee ST, *et al.* The early gene *hhi1* reactivates *Heliothis zea* nudivirus 1 in latently infected cells. *J Virol* 2010 ; 84 : 1057-65.
88. Burand JP, Rallis CP, Tan W. Horizontal transmission of Hz-2V by virus infected *Helicoverpa zea* moths. *J Invert Pathol* 2004 ; 85 : 128-31.
89. Jehle JA, Abd-Alla AM, Wang Y. Phylogeny and evolution of Hytrosaviridae. *J Invert Pathol* 2013 ; 112 : 62-7.
90. Herniou EA, Huguët E, Theze J, Bezier A, Periquet G, Drezen JM. When parasitic wasps hijacked viruses: genomic and functional evolution of polydnaviruses. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2013 ; 368 : 20130051.
91. Thézé J, Bézier A, Periquet G, Drezen JM, Herniou EA. Paleozoic origin of insect large dsDNA viruses. *Proc Nat A Sci* 2011 ; 108 : 15931-5.
92. Bézier A, Thézé J, Gavory F, *et al.* The genome of the nucleopolyhedrosis-causing virus from *Tipula oleracea* sheds new light on the Nudiviridae family. *J Virol* 2015 ; 89 : 3008-25.
93. Burke GR, Thomas SA, Eum JH, Strand MR. Mutualistic polydnaviruses share essential replication gene functions with pathogenic ancestors. *PLoS Pathog* 2013 ; 9 : e1003348.
94. Volkoff AN, Jouan V, Urbach S, *et al.* Analysis of virion structural components reveals vestiges of the ancestral ichnovirus genome. *PLoS Pathog* 2010 ; 6 : e1000923.
95. Béliveau C, Cohen A, Stewart D, *et al.* Genomic and proteomic analyses indicate that banchine and campoplegine polydnaviruses have similar, if not identical, viral ancestors. *J Virol* 2015 ; 89 : 8909-21.
96. Darboux I, Cusson M, Volkoff AN. The dual life of ichnoviruses. *Curr Opin Insect Sci* 2018 ; 32 : 47-53.
97. Lorenzi A, Ravallec M, Eychenne M, *et al.* RNA interference identifies domesticated viral genes involved in assembly and trafficking of virus-derived particles in ichneumonid parasitic wasps. *PLoS Pathog* 2019 ; 15(12) : e1008210.