



 **Prof. Elisabeth Huguet**  
Université de Tours  
 33 2 47367357  
 elisabeth.huguet@univ-tours.fr

Tours, le 14 février 2023

## Rapport sur les travaux présentés par Benjamin Guinet en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat

Les travaux présentés par M. Benjamin Guinet s'inscrivent dans le cadre des études d'interactions durables impliquant des guêpes parasitoïdes et les virus qui leur sont associés.

La majeure partie de la thèse s'intéresse plus particulièrement à la caractérisation de nouveaux éléments viraux endogènes et dans certains cas domestiqués chez les Hyménoptères. Ces virus domestiqués peuvent permettre la production chez les guêpes endoparasitoïdes de particules de type viral ou comme le propose M. B. Guinet de « structures virales » jouant un rôle essentiel dans la réussite parasitaire de l'hôte. Au cours de sa recherche d'éléments viraux endogènes dans plus d'une centaine de génomes d'espèces d'Hyménoptères, M. B. Guinet a également révélé la présence de virus libres, dont des virus proches phylogénétiquement du *Leptopilina boulardi* filamentous virus (LbFV), qui induit un comportement de « superparasitisme » des femelles infectées. Cette découverte lui a permis de décrire six nouveaux virus filamenteux et de suggérer que ces virus filamenteux constituent une nouvelle famille au sein de la classe des Naldaviricetes (virus à ADNdb infectant les Arthropodes). Finalement, M. B. Guinet, s'est attaché à décrypter l'histoire évolutive de l'endogénisation de gènes viraux filamenteux par les guêpes parasitoïdes de la famille des Cynipoidea, comprenant les guêpes du genre *Leptopilina*. En effet, des gènes endogénisés phylogénétiquement proches de virus filamenteux, présents dans les génomes des guêpes du genre *Leptopilina*, permettent la production chez *Leptopilina boulardi* de structures virales contenant des facteurs de virulence qui protègent l'œuf parasitoïde du système immunitaire de l'hôte. A l'instar des travaux réalisés sur l'histoire évolutive de la domestication des nudivirus par les guêpes du complexe *Microgastroïde* qui place l'événement d'endogénisation de l'ancêtre nudiviral à environ 100 millions d'années, les travaux de M. B. Guinet indiquent qu'un événement d'endogénisation d'un virus filamenteux s'est produit il y a environ 75 millions d'années chez l'ancêtre commun de 6 espèces d'*Eucoilini* dans la famille des Cynipoidea. Finalement, l'utilisation de ces deux dates d'endogénisation pour calibrer la phylogénie des Naldaviricetes a permis à M. B. Guinet d'inférer l'apparition des virus filamenteux à 250-350 millions d'années.

Ainsi, les travaux de M. B. Guinet représentent une avancée majeure dans le domaine des interactions Hyménoptères-virus, d'une part par la description de nombreux événements d'endogénisations ainsi que de domestications de séquences virales au sein des Hyménoptères, d'autre part par la proposition de description d'une nouvelle famille virale à ADNdb et, enfin par le début de la reconstitution de l'histoire évolutive des virus filamenteux libres et endogènes.

Il est important de souligner que le manuscrit est présenté et organisé avec une touche originale et personnelle, qui témoigne d'une très forte appropriation de la thématique et d'un souci de rendre la lecture du manuscrit fluide.

En effet, la thèse démarre avec un préambule qui permet aux non-spécialistes de se plonger dans l'univers fascinant (voire effrayant !) des guêpes parasitoïdes. Ce préambule est suivi d'une courte partie qui éclaire le lecteur sur le contexte général de la thèse. Les trois chapitres suivants correspondent à une introduction qui se concentre sur les éléments viraux endogènes et les événements de domestications notamment chez les guêpes parasitoïdes. Dans cette partie introductive, il aurait été bienvenu d'accorder un peu d'espace à la description de certains gènes viraux cœur des Naldaviricetes, dans la mesure où, par la suite, la thèse se concentre essentiellement sur l'étude de virus de cette famille. De façon originale, les trois chapitres suivants correspondent à des résumés (en français) de chaque article présenté par M. B. Guinet, permettant d'avoir une vision concise et globale des résultats majeurs de la thèse, suivis, dans la foulée, de la discussion générale. Les trois articles en anglais en cours de préparation ou soumis, qui détaillent les résultats, sont ensuite présentés. Ils sont suivis par un chapitre où M. B. Guinet aborde l'une des perspectives de son travail et les points d'amélioration qui pourraient être apportés pour la découverte de nouveaux virus à ADN. Le dernier chapitre de la thèse récapitule toutes les méthodes de bioinformatique utilisées, qui résument finalement l'ensemble des stratégies employées au cours de ce travail pour détecter des éléments viraux et inférer les événements d'endogénéisation et de domestication. Cette partie plus « méthodologique » est intéressante car elle permet à M. B. Guinet d'expliquer plus en détail la philosophie derrière les stratégies adoptées tout en portant un regard critique sur les approches et en présentant leurs limites ainsi que les améliorations à apporter, ce qui témoigne d'une grande maîtrise du sujet.

Il faut souligner le soin apporté à l'iconographie et la qualité remarquable des figures dans l'ensemble du manuscrit, notamment les figures du dernier chapitre qui illustrent les stratégies employées tout au long de la thèse. Une telle qualité dans la représentation de ces approches méthodologiques et des résultats pourrait inciter M. B. Guinet à participer à l'écriture d'une revue bibliographique.

L'ensemble des résultats présentés par M. B. Guinet représente une quantité de travail très importante et apporte de nouvelles connaissances majeures concernant les virus endogènes et exogènes d'Hyménoptères.

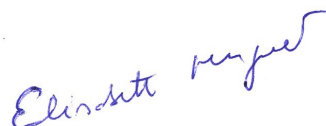
Dans la première partie de la thèse, M. B. Guinet a développé une approche bioinformatique élégante pour rechercher des éléments viraux endogènes en créant un index de confiance qui tient compte de plusieurs paramètres. Il se base également sur plusieurs critères, clairement explicités, pour inférer les événements de domestication. Ainsi, M. B. Guinet propose, pour la première fois, une vision plus exhaustive de la présence d'éléments viraux au sein des Hyménoptères, en recherchant ces événements au sein de 124 génomes d'Hyménoptères présentant différents traits d'histoire de vie (libres, ecto- et endoparasites). Ces résultats ont permis d'identifier des éléments viraux endogénisés appartenant à 40 familles virales dont certaines n'avaient pas précédemment été associées à des insectes et d'inférer de nouveaux événements de domestications. Les résultats obtenus permettent également à M. B. Guinet de proposer que, chez les Hyménoptères, les virus à ADNdb sont plus souvent endogénisés et domestiqués que les autres types de virus, et que ce phénomène d'endogénéisation est plus fréquent chez les Hyménoptères endoparasitoïdes. Ces travaux ouvrent une véritable boîte de

Pandore tant les perspectives sont nombreuses. Il sera très intéressant de discuter avec M. B. Guinet des critères utilisés pour l'identification d'éléments viraux et de connaître son opinion sur la possibilité de rechercher de façon plus systématique des éléments viraux pseudogénisés, qui peuvent aussi aider à reconstruire l'histoire évolutive des interactions entre virus et guêpes parasitoïdes.

Dans les deuxième et troisième parties de la thèse, M. B. Guinet se focalise sur les virus filamenteux. La capacité de M. B. Guinet à travailler dans le cadre d'une collaboration est illustrée par le deuxième article qui est en cours de rédaction avec l'Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte à Tours. Les résultats permettent ainsi aux auteurs de proposer l'existence d'une nouvelle famille, appelée Filamentoviridae, au sein de la classe des Naldaviricetes. Ici il serait intéressant de discuter de la procédure à suivre pour soumettre cette nouvelle famille à l'ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses). Dans le troisième article, les résultats obtenus permettent à M. B. Guinet de reconstruire l'histoire évolutive de la domestication de virus filamenteux chez des guêpes endoparasitoïdes de la famille des Cynipoidea et d'inférer l'apparition des virus filamenteux à 250-350 millions d'années. Fait intéressant, les analyses conduites par M. B. Guinet lui ont permis de mettre en évidence deux événements d'endogénéisation indépendants. L'événement ancestral a pu être daté à environ 75 millions d'années, tandis que dans le deuxième événement plus récent il est possible d'observer chez l'espèce concernée, des pseudogènes, des gènes complets (et donc potentiellement redondants avec l'événement ancestral) et de manière assez remarquable un cas de remplacement d'un gène de l'événement initial par le gène homologue provenant du deuxième événement d'endogénéisation.

La qualité de cette thèse se mesure non seulement aux résultats originaux et importants qu'elle apporte dans la caractérisation d'éléments viraux intégrés et leur domestication chez les guêpes parasitoïdes, mais aussi aux perspectives qu'elle ouvre dans les domaines de la méthodologie pour rechercher de tels éléments, de la caractérisation de la biodiversité virale chez les insectes, et de la recherche de tels événements de façon plus large dans le vivant. Les résultats obtenus, déjà en partie valorisés sous la forme d'un bioRxiv preprint, devraient permettre la réalisation au total d'au moins trois publications à haut facteur d'impact, permettant d'alimenter un dossier qui comporte déjà une publication issue de travaux effectués en Master.

Devant l'excellence du travail effectué, je félicite M. B. Guinet et donne un avis très favorable quant à la recevabilité de son manuscrit et de sa soutenance orale en vue de l'obtention du doctorat.



Elisabeth Huguet

Elisabeth Huguet,

Professeure, Université de Tours