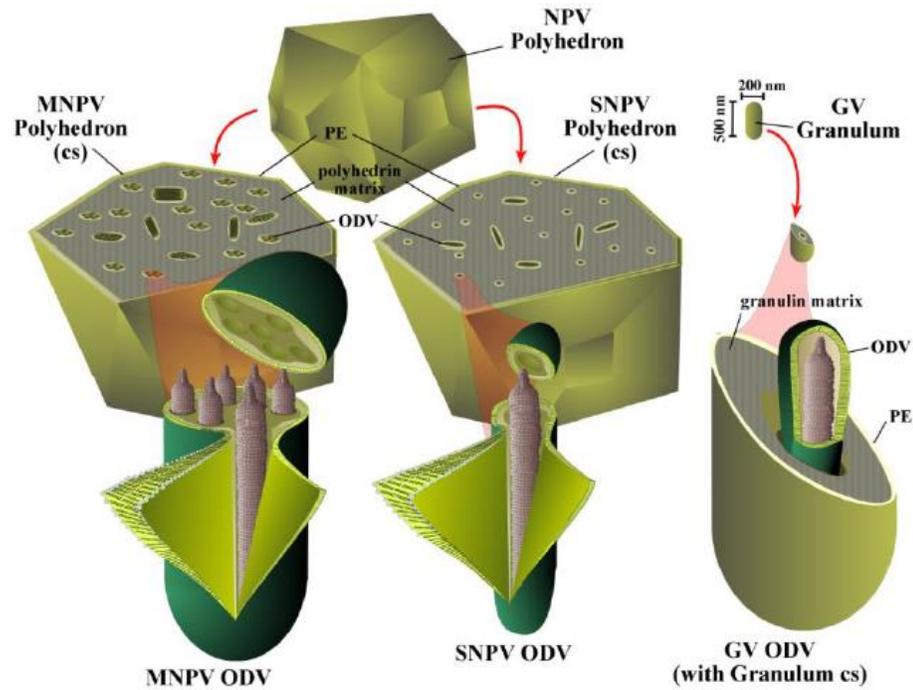


Evolution des mécanismes d'interactions  
entre un virus utilisé comme pesticide, le  
granulovirus CpGV et le carpocapse des  
pommés (*Cydia pomonella*)

**Myriam Siegwart**, Jérôme Olivares, Mathieu Gautier, Sandrine Maugin,  
Léa Gingueneau, Bertrand Gauffre

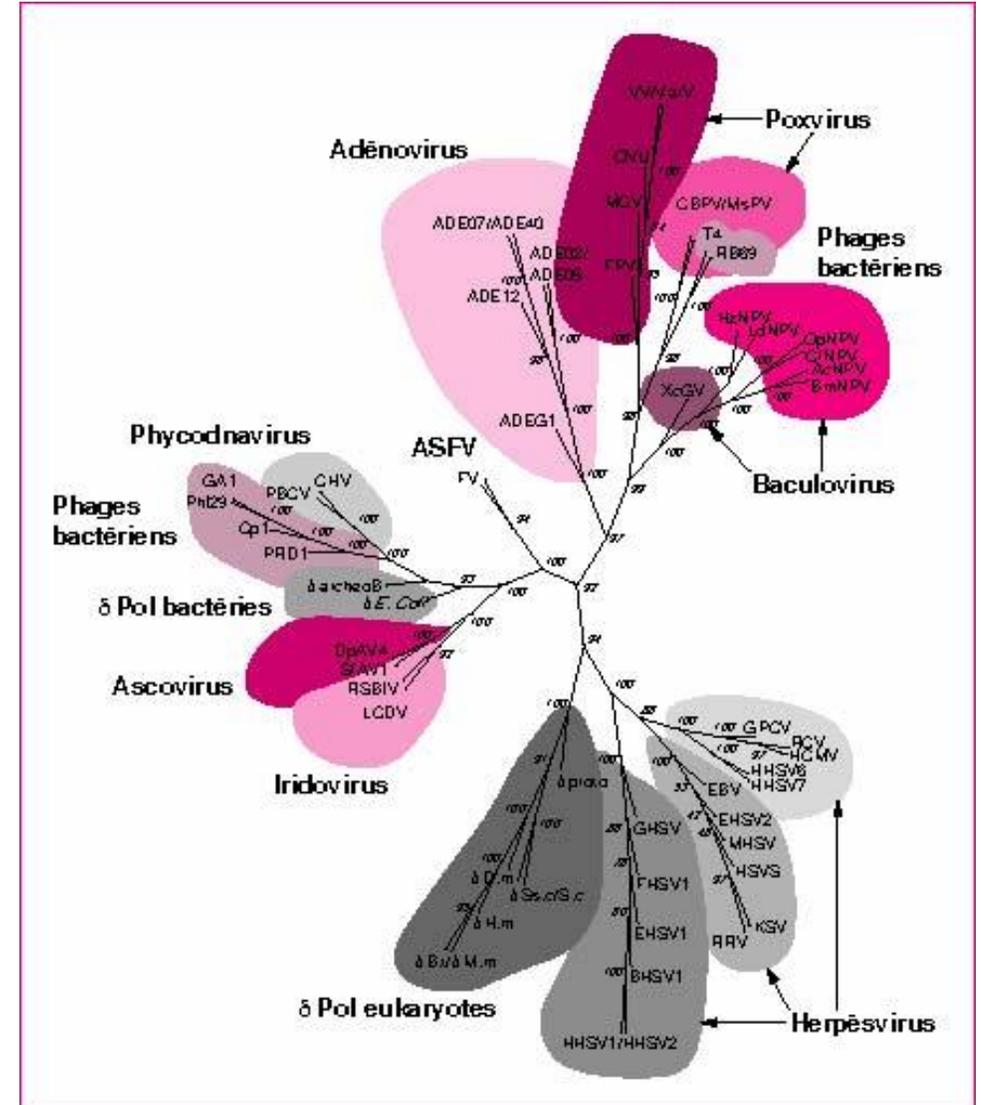


# Le CpGV un baculovirus

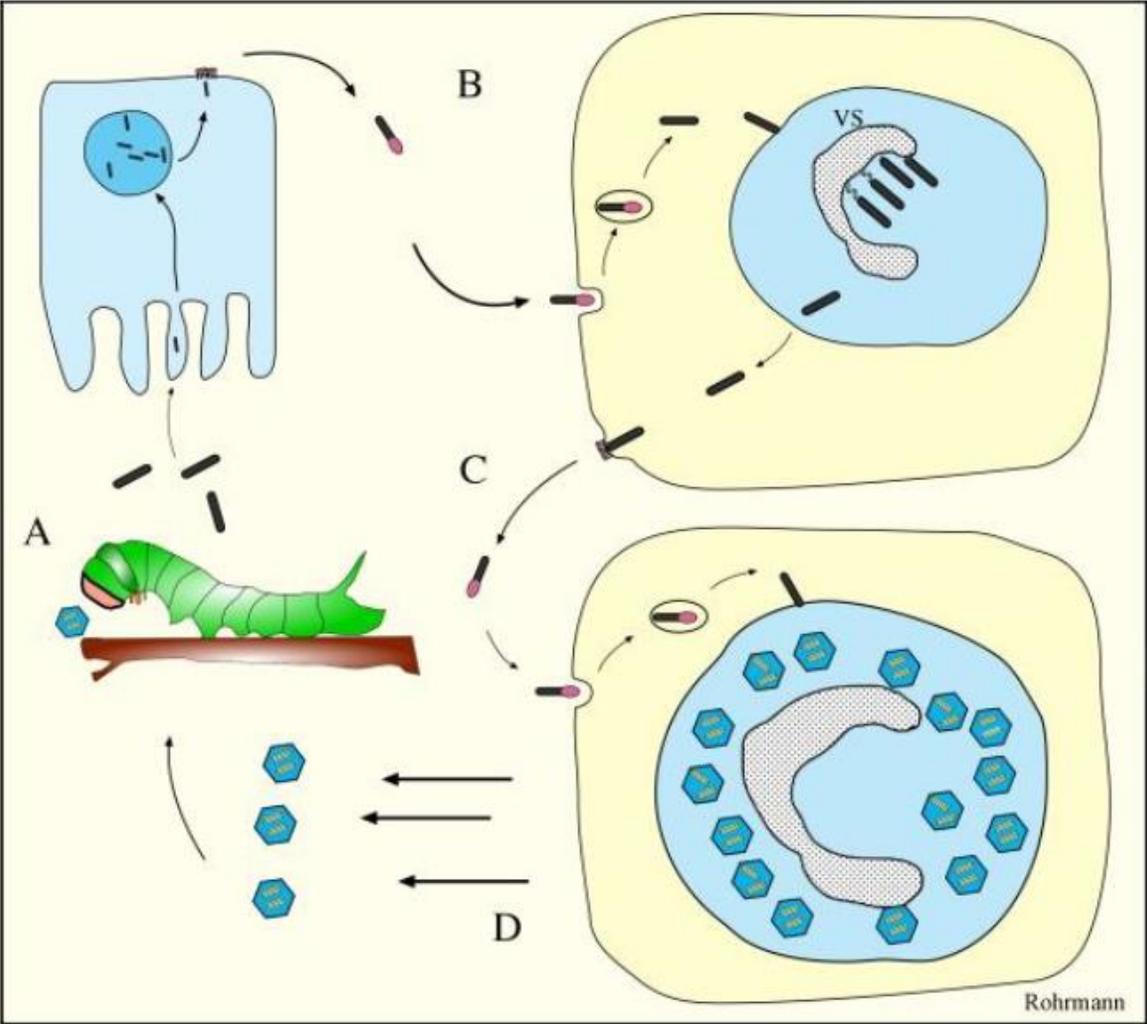


Slack and Arif, 2007

ADN db circulaire  
120 Kb



# Le CpGV un baculovirus



# Intéractions CpGV-M vs *Cydia pomonella*

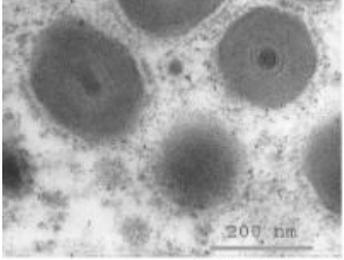
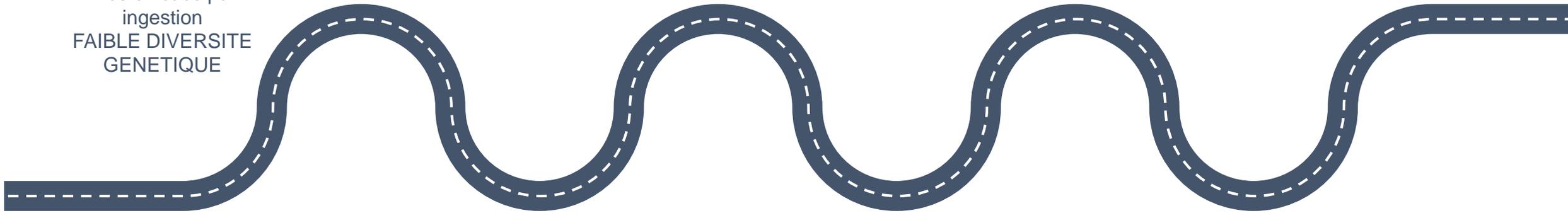


Photo I. Bomard



Granulovirus  
Hautement spécifique  
Très efficace par  
ingestion  
FAIBLE DIVERSITE  
GENETIQUE

1965



# Intéractions CpGV-M vs *Cydia pomonella*

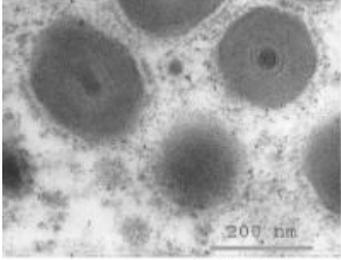


Photo I. Bomard



Granulovirus  
Hautement spécifique  
Très efficace par  
ingestion  
FAIBLE DIVERSITE  
GENETIQUE

1965

Date de mise sur le marché  
Adoption rapide et étendue  
dans les parcelles en AB +++  
et IPM + → 14 treatments

1992



Photo Nehru;  
Dreamstime.com

# Intéractions CpGV-M vs *Cydia pomonella*

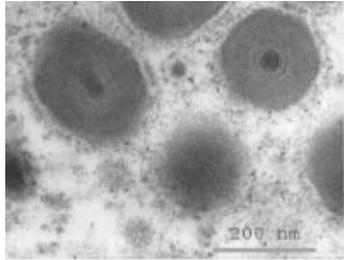


Photo I. Bomard



Granulovirus  
Hautement spécifique  
Très efficace par  
ingestion  
FAIBLE DIVERSITE  
GENETIQUE

1965

1<sup>st</sup> détection  
Forte résistance dans la  
région d'Avignon  
RR= 13 000



2005

Date de mise sur le marché  
Adoption rapide et étendue  
dans les parcelles en AB +++  
et IPM + → 14 treatments

1992



Photo Nehru;  
Dreamstime.com

# Intéractions CpGV-M vs *Cydia pomonella*

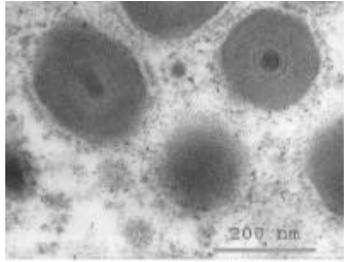


Photo I. Bomard



Granulovirus  
Hautement spécifique  
Très efficace par ingestion  
FAIBLE DIVERSITE GENETIQUE

1965

1<sup>st</sup> détection  
Forte résistance dans la région d'Avignon  
RR= 13 000



2005

Date de mise sur le marché  
Adoption rapide et étendue dans les parcelles en AB +++ et IPM + → 14 treatments

1992

Caractérisation de la rééistance

1 gène majeur  
Dominant  
On Z chromosome

2009

Mise sur le marché de nouveaux isolats CpGV-R5 et CpGV-V15



Photo Nehru; Dreamstime.com



Berling, 2009

# Intéractions CpGV-M vs *Cydia pomonella*

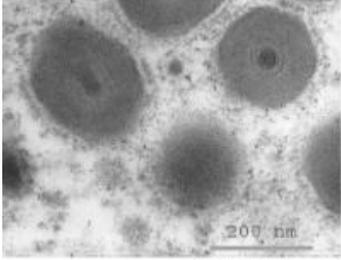


Photo I. Bomard



Granulovirus  
Hautelement spécifique  
Très efficace par ingestion  
FAIBLE DIVERSITE GENETIQUE

1965

1<sup>st</sup> détection  
Forte résistance dans la région d'Avignon  
RR= 13 000



2005



2014

Surveillance et gestion de ces résistances avec des biotests

Date de mise sur le marché  
Adoption rapide et étendue dans les parcelles en AB +++ et IPM + → 14 treatments

1992



Photo Nehru; Dreamstime.com

Caractérisation de la rééistance

1 gène majeur  
Dominant  
On Z chromosome

2009

Mise sur le marché de nouveaux isolats CpGV-R5 et CpGV-V15



Berling, 2009

# Intéractions CpGV-M vs *Cydia pomonella*

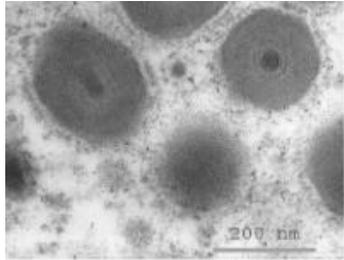


Photo I. Bomard



Granulovirus  
 Hautement spécifique  
 Très efficace par ingestion  
 FAIBLE DIVERSITE GENETIQUE

1965

1<sup>st</sup> détection  
 Forte résistance dans la région d'Avignon  
 RR= 13 000



2005



Travail de thèse Léa Gingueneau pour caractériser cette nouvelle évolution et développer de nouvelles solutions

2014

Surveillance et gestion de ces résistances avec des biotests

2023

Date de mise sur le marché  
 Adoption rapide et étendue dans les parcelles en AB +++ et IPM + → 14 treatments

1992

Caractérisation de la rééistance

1 gène majeur  
 Dominant  
 On Z chromosome



Mise sur le marché de nouveaux isolats CpGV-R5 et CpGV-V15

2009

Berling, 2009

2020

1<sup>st</sup> détection de résistances aux deux nouveaux isolats viraux



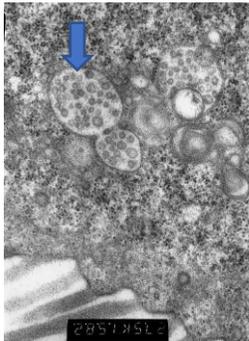
Photo Nehru; Dreamstime.com

Résistance de type 1 (au CpGV-M)

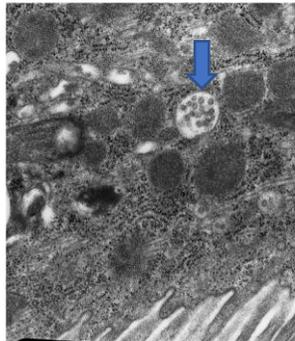
# Point de blockage du cycle viral dans les insectes résistants



Berling, 2009

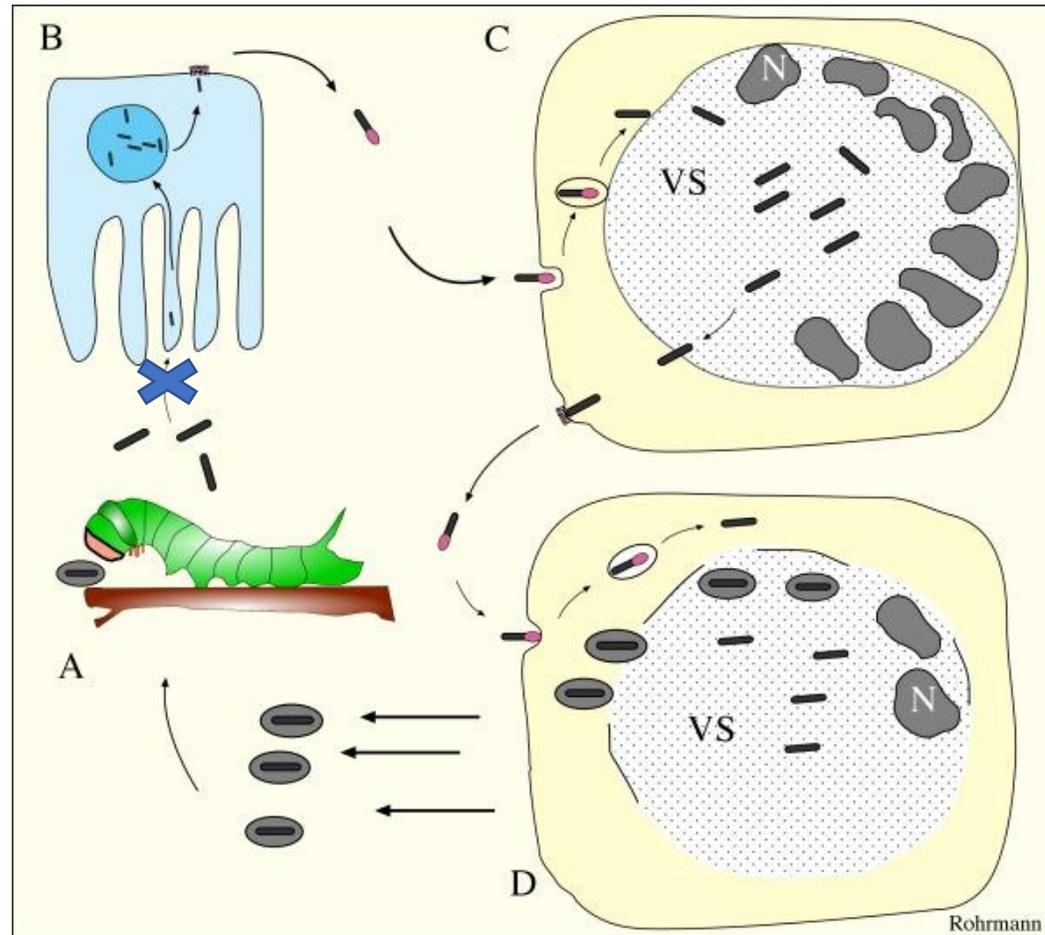


Susceptible (Sv)



Resistant (RGV)

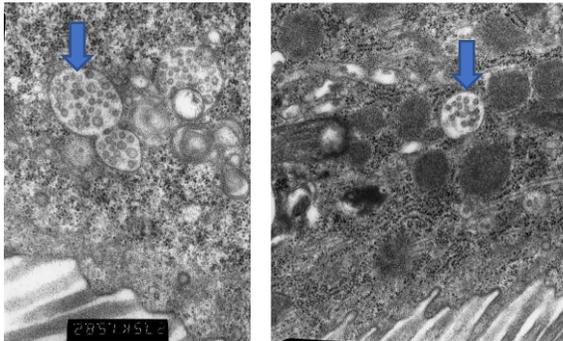
PAS au niveau de la pénétration



# Point de blocage du cycle viral dans les insectes résistants



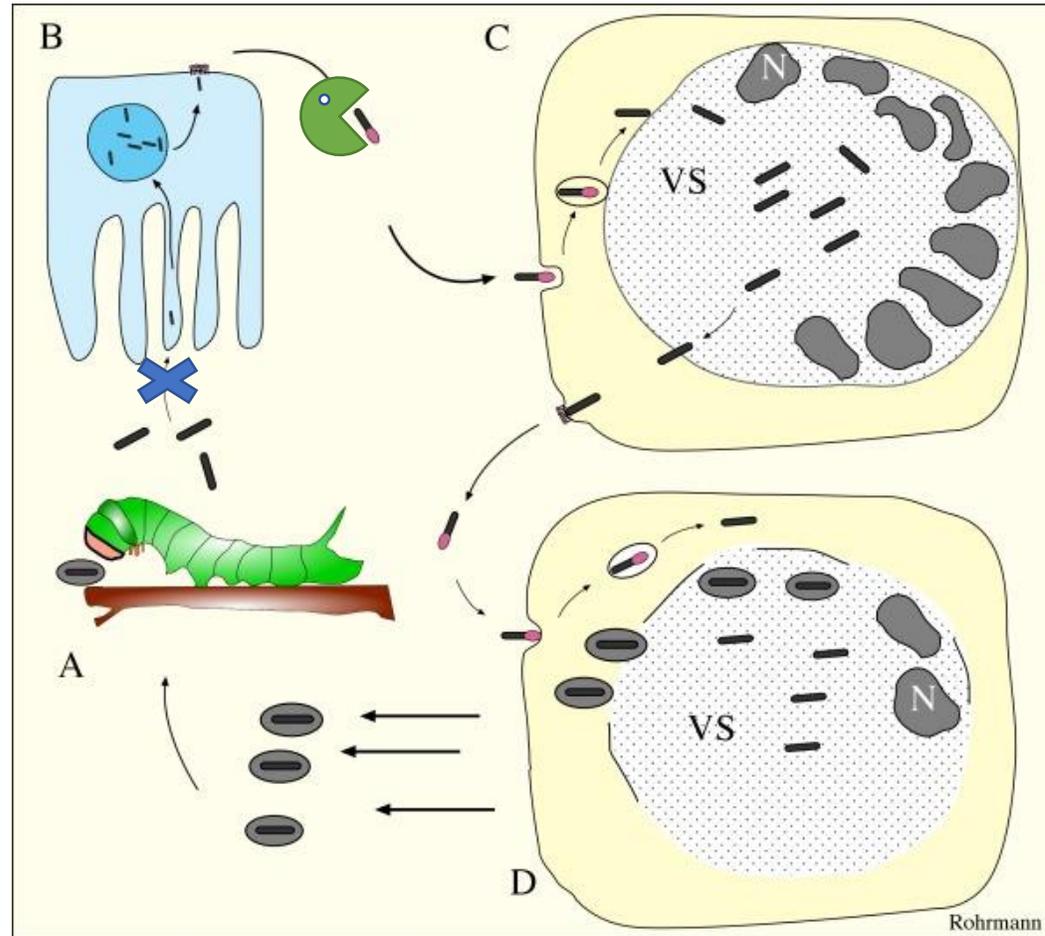
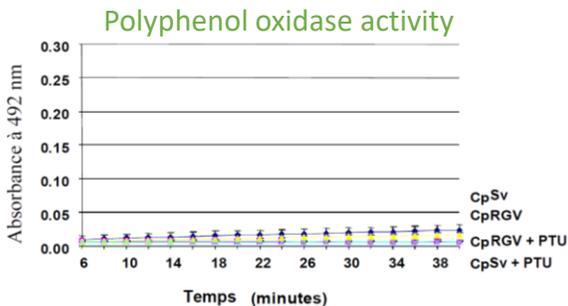
Berling, 2009



Susceptible (Sv)      Resistant (RGV)

PAS au niveau de la pénétration

PAS PPO

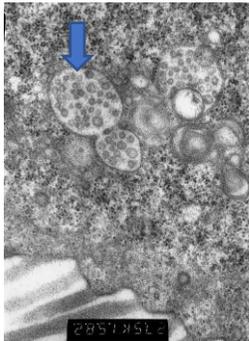


2019, George Rohrmann.

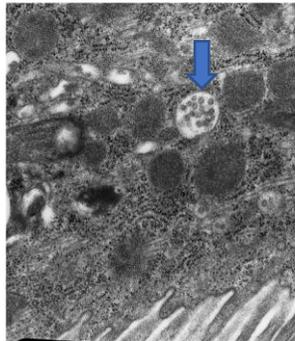
# Point de blockage du cycle viral dans les insectes résistants



Berling, 2009



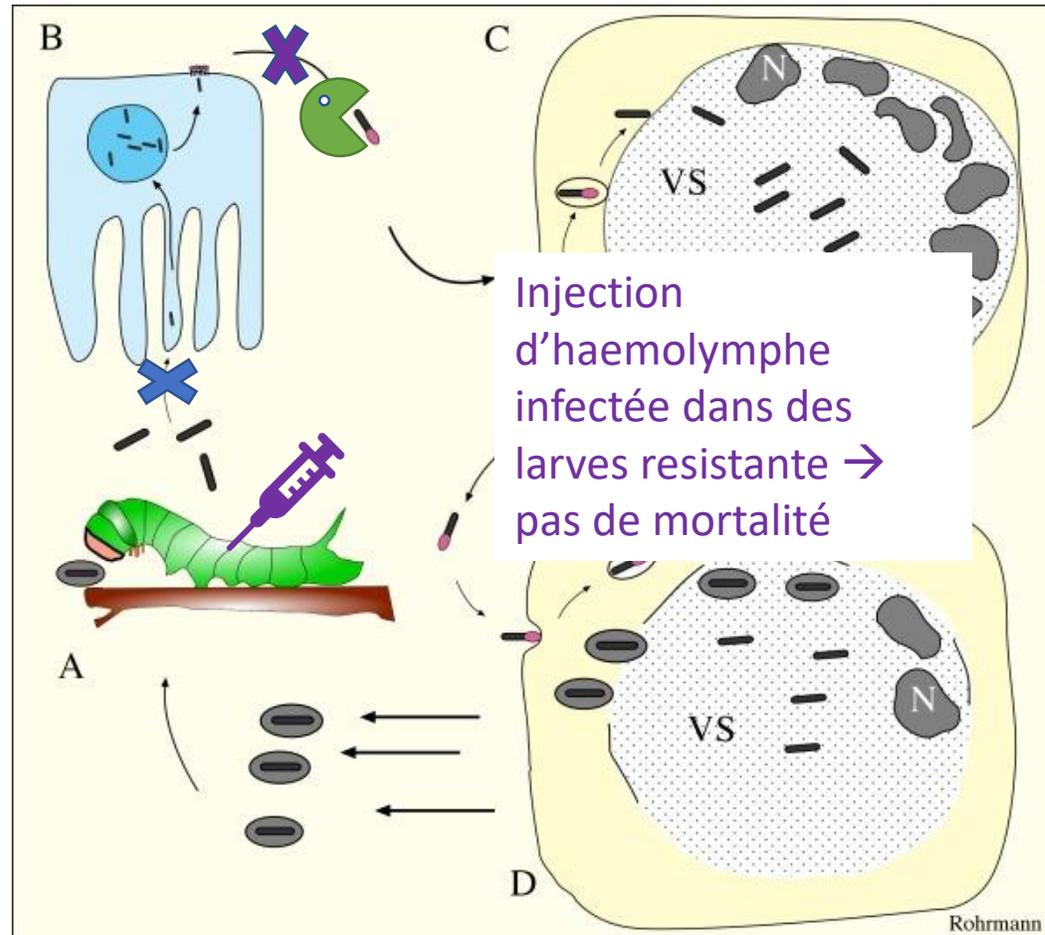
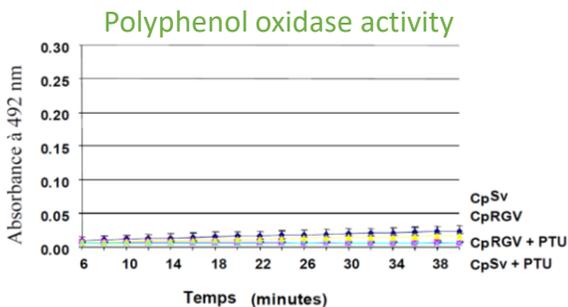
Susceptible (Sv)



Resistant (RGV)

PAS au niveau de la pénétration

PAS PPO

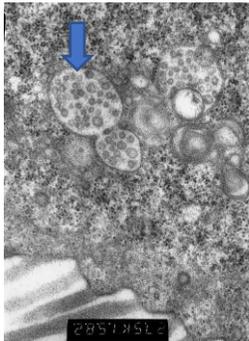


# Point de blockage du cycle viral dans les insectes résistants



Berling, 2009

Pas de détection par RT-PCR de *lef-8* dans le tube digestif des insectes résistants 24 et 48h après l'infection  
 → PAS DE REPLICATION



Susceptible (Sv)

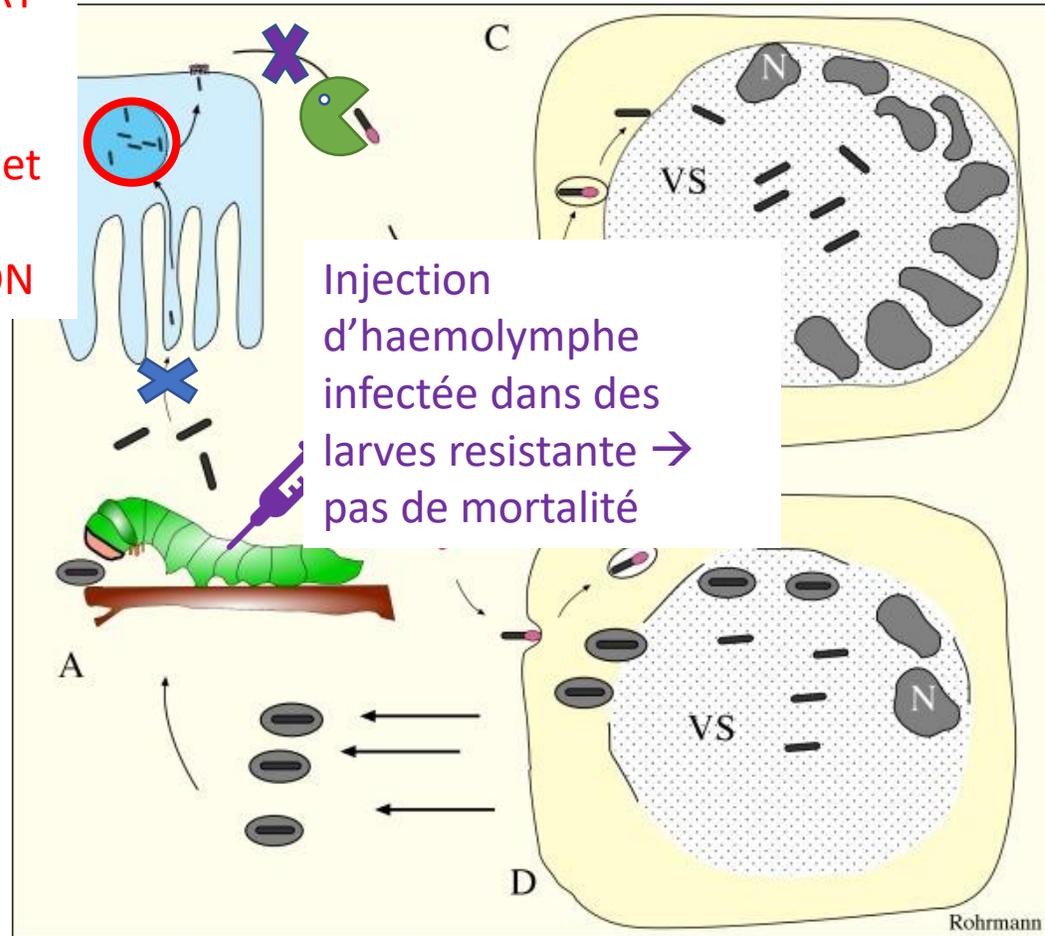
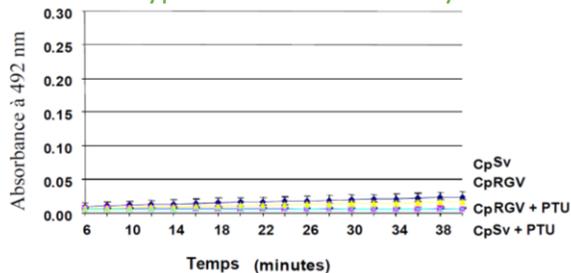


Resistant (RGV)

PAS au niveau de la pénétration

Polyphenol oxidase activity

PAS PPO

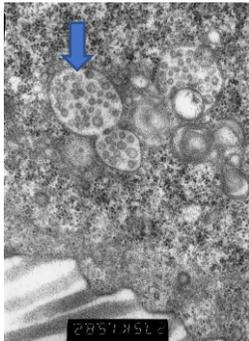


# Point de blockage du cycle viral dans les insectes résistants

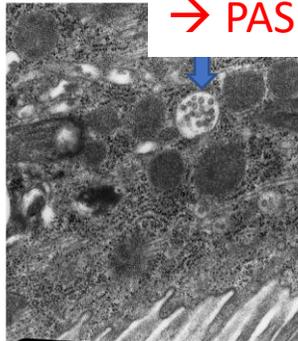


Berling, 2009

Pas de détection par RT-PCR de *lef-8* dans le tube digestif des insectes résistants 24 et 48h après l'infection  
→ PAS DE REPLICATION



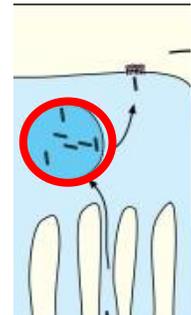
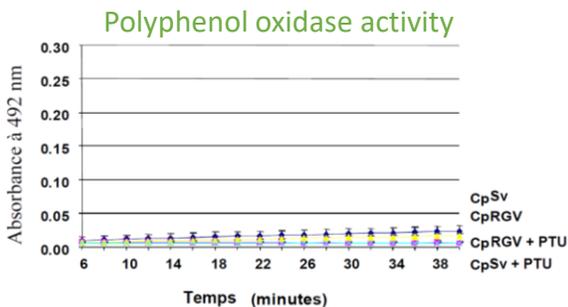
Susceptible (Sv)



Resistant (RGV)

PAS au niveau de la pénétration

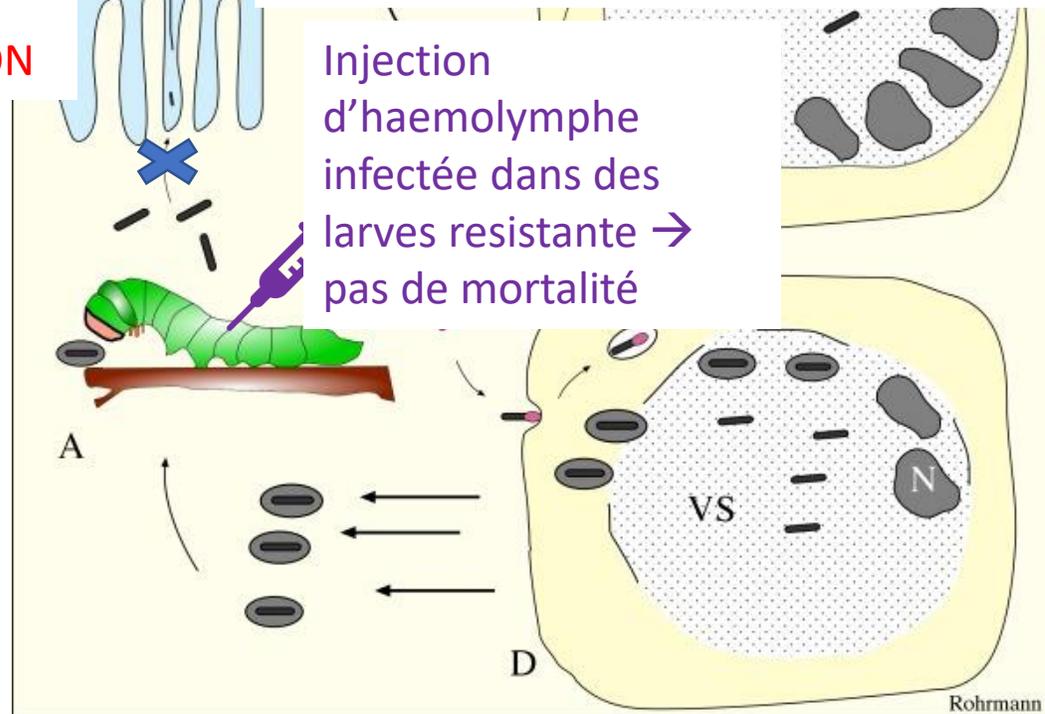
PAS PPO



Transcriptome of *Cydia pomonella* granulovirus in susceptible and type I resistant codling moth larvae

Jörg T. Wennmann, Diana Pietruska and Johannes A. Jehle\*

Injection d'haemolymphe infectée dans des larves résistante → pas de mortalité



Conclue aussi que le point de blockage se situe dans la transcription ou la réplication du virus

# Bases génétique et mécanisme immunitaire connu chez les lépidoptères contre les Baculoviruses



Berling, 2007

## Caractérisation de la résistance

1 gène major

Dominant

sur chromosome Z



## Research Article



Received: 23 July 2012    Revised: 19 December 2012    Accepted article published: 30 December 2012    Published online in Wiley Online Library: 21 March 2013

(wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/ps.3493

## **A single sex-linked dominant gene does not fully explain the codling moth's resistance to granulovirus**

Marie Berling,<sup>a</sup> Benoît Sauphanor,<sup>b</sup> Antoine Bonhomme,<sup>c</sup> Myriam Siegwart<sup>b\*</sup> and Miguel Lopez-Ferber<sup>a</sup>

# Bases génétique et mécanisme immunitaire connu chez les lépidoptères contre les Baculoviruses



Berling, 2007

## Caractérisation de la résistance

1 gène major

Dominant

sur chromosome Z



## Research Article

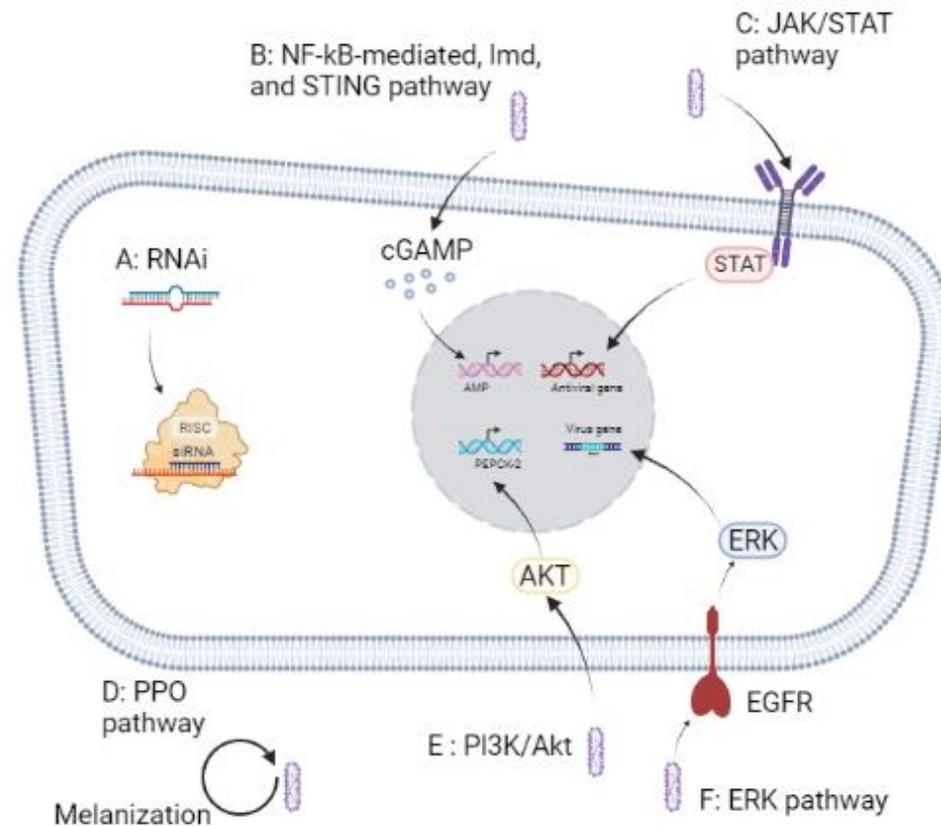


Received: 23 July 2012 | Revised: 19 December 2012 | Accepted article published: 30 December 2012 | Published online in Wiley Online Library: 21 March 2013

(wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/ps.3493

## A single sex-linked dominant gene does not fully explain the codling moth's resistance to granulovirus

Marie Berling,<sup>a</sup> Benoît Sauphanor,<sup>b</sup> Antoine Bonhomme,<sup>c</sup> Myriam Siegwart<sup>b\*</sup> and Miguel Lopez-Ferber<sup>a</sup>



Adapted from (Liang J, 2021)

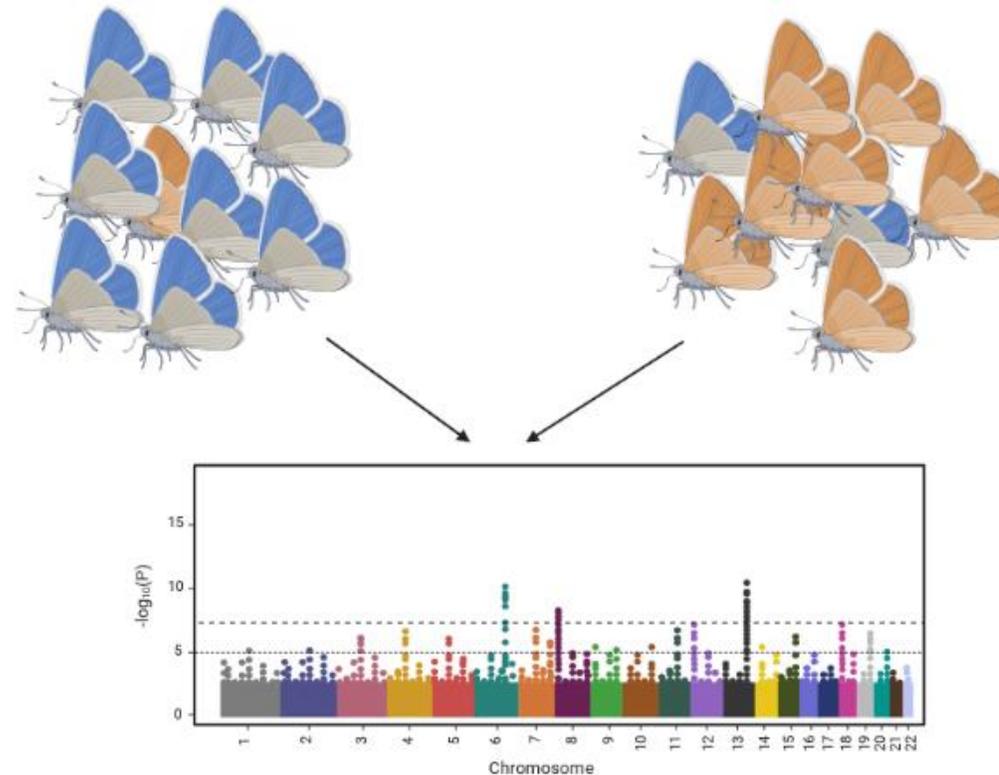


## Genetic basis of codling moth (*Cydia pomonella*) resistance to the original isolate of *C. pomonella Granulovirus* (CpGV-M)

Jérôme Olivares<sup>1</sup>, Myriam Siegwart<sup>1,\*</sup>, Mathieu Gautier<sup>2</sup>, Sandrine Maugin<sup>1</sup>, Léa Gingueneau<sup>1</sup>, and Bertrand Gauffre<sup>1</sup>

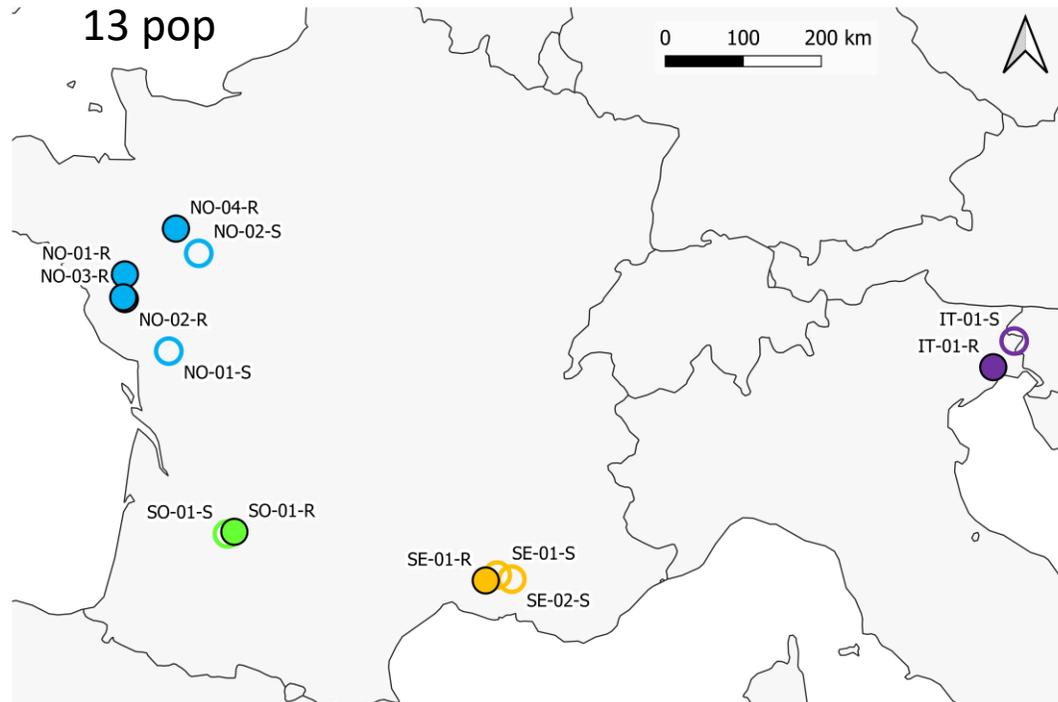
# Objectif

Trouver les bases génétique de la résistance de type 1 par une approche de génomique (GWAS)



# Matériel et Méthode

Bandes cartonnées  
pièges → larves  
diapausantes



# Matériel et Méthode

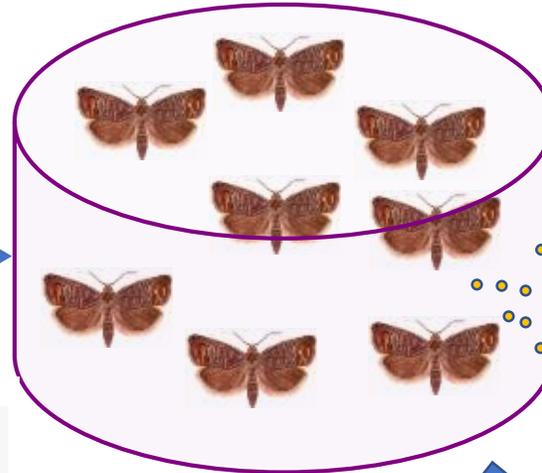
Bandes cartonnées  
pièges → larves  
diapausantes



Emergence au  
printemps après levée  
de diapause



Reproduction en pool



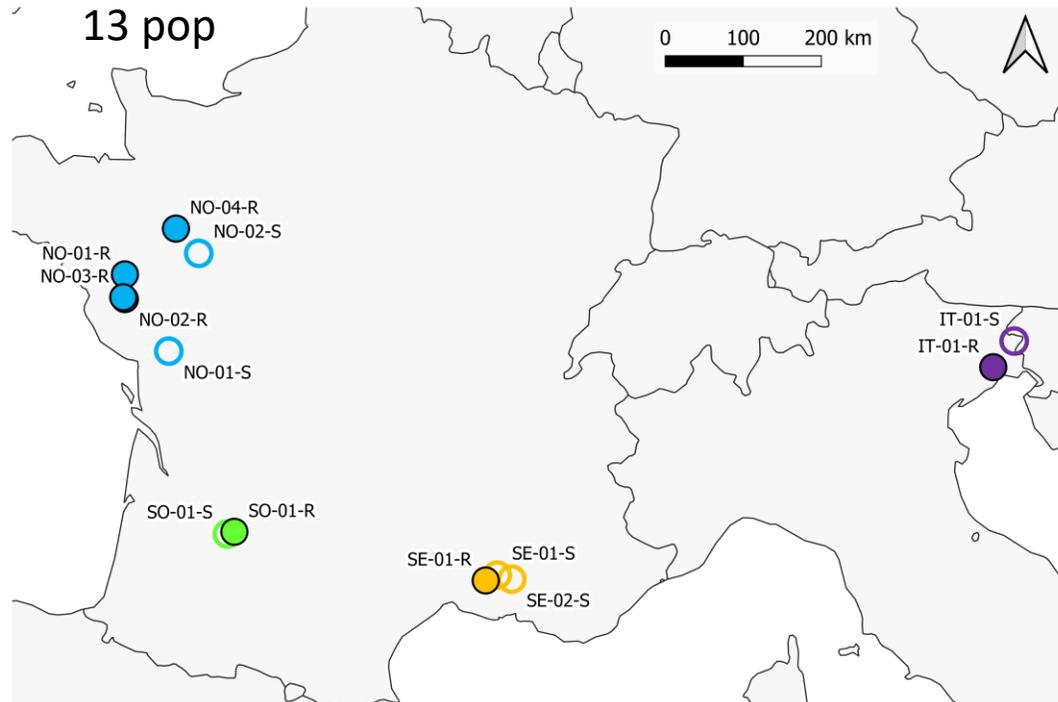
Descendants au  
stade néonatal



Dose discriminante



Extrapolation  
phénotype parental



# Matériel et Méthode

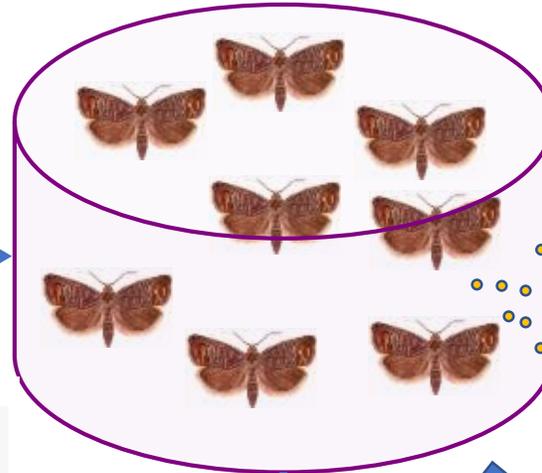
Bandes cartonnées  
pièges → larves  
diapausantes



Emergence au  
printemps après levée  
de diapause

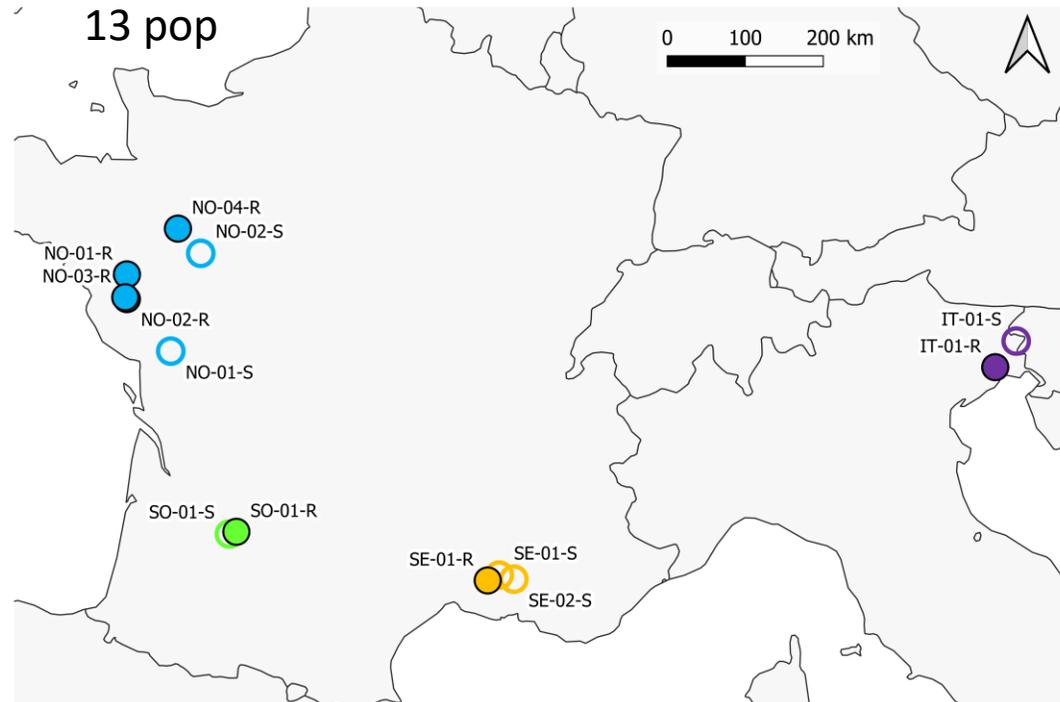


Reproduction en pool



Descendants au  
stade néonatal

Dose discriminante



EXTRACTION ADN EN  
POOL  
12 – 100 ind

13 populations sauvages  
+  
2 souches de lab :

1 S et 1 R

R introgressé en  
2008

Extrapolation  
phénotype parental

Sequençage DNPseq  
et illumina  
(prestation de service)

Pipeline d'analyse

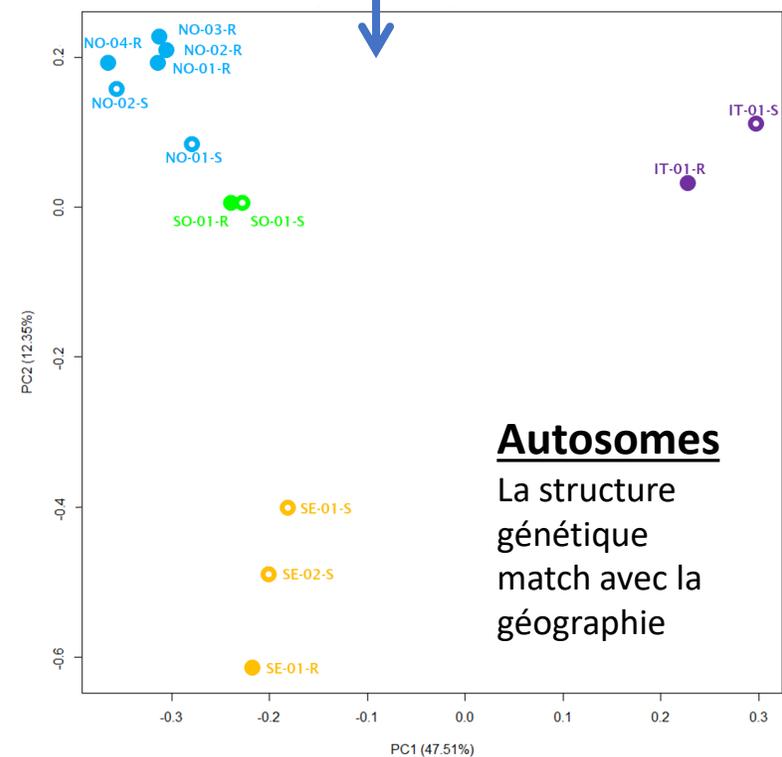
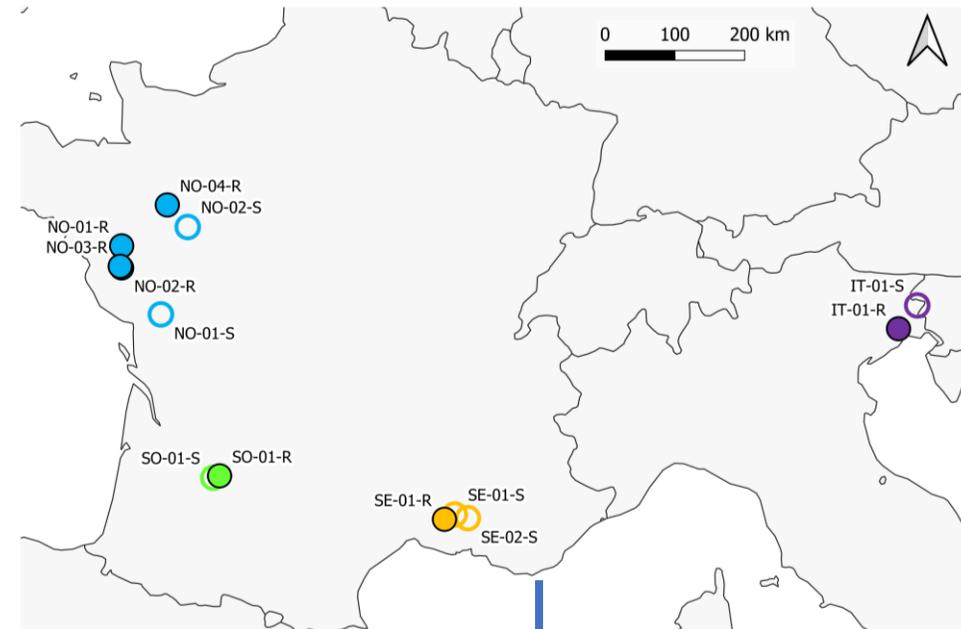
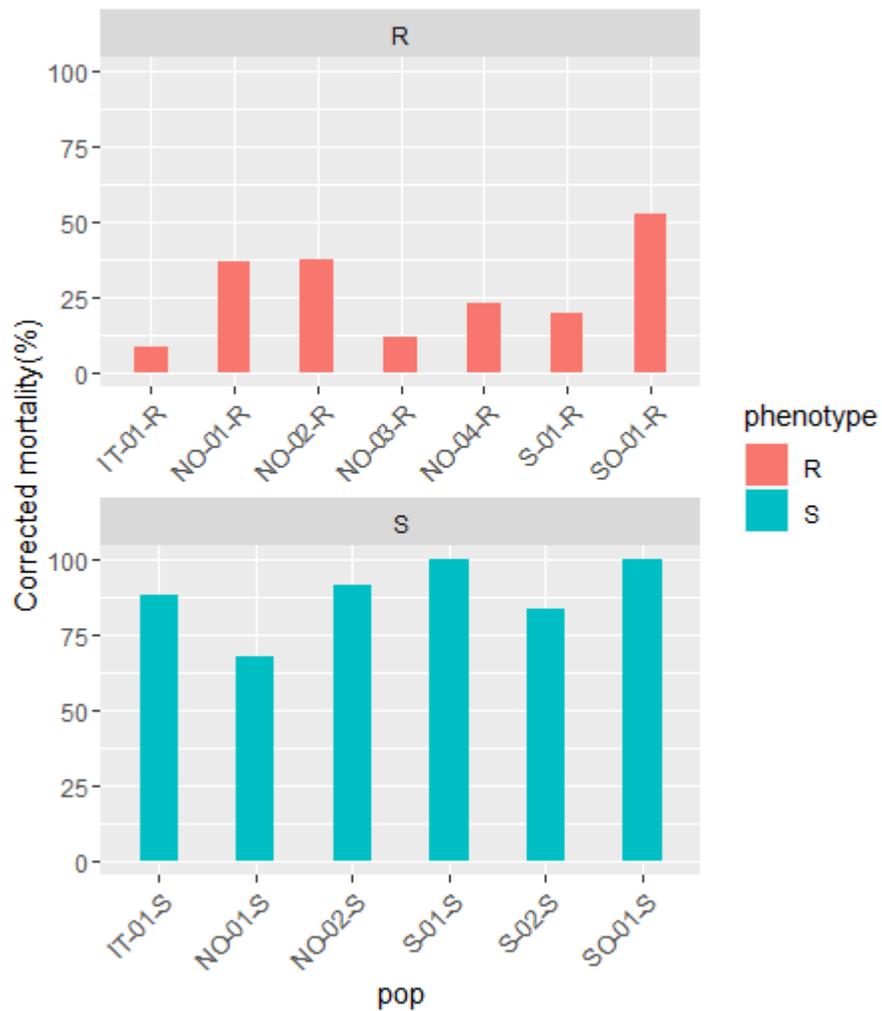
Alignment  
Variant calling  
Bypass 2.3

GENETICS | INVESTIGATION

Genome-Wide Scan for Adaptive Divergence and  
Association with Population-Specific Covariates

Mathieu Gautier<sup>1</sup>  
INRA, UMR CBGP (Centre de Biologie pour la Gestion des Populations), Campus International de Baillarguet, F-34988 Montpellier-  
sur-Lez, France, and IBC (Institut de Biologie Computationnelle), F-34095 Montpellier, France

# Résultats

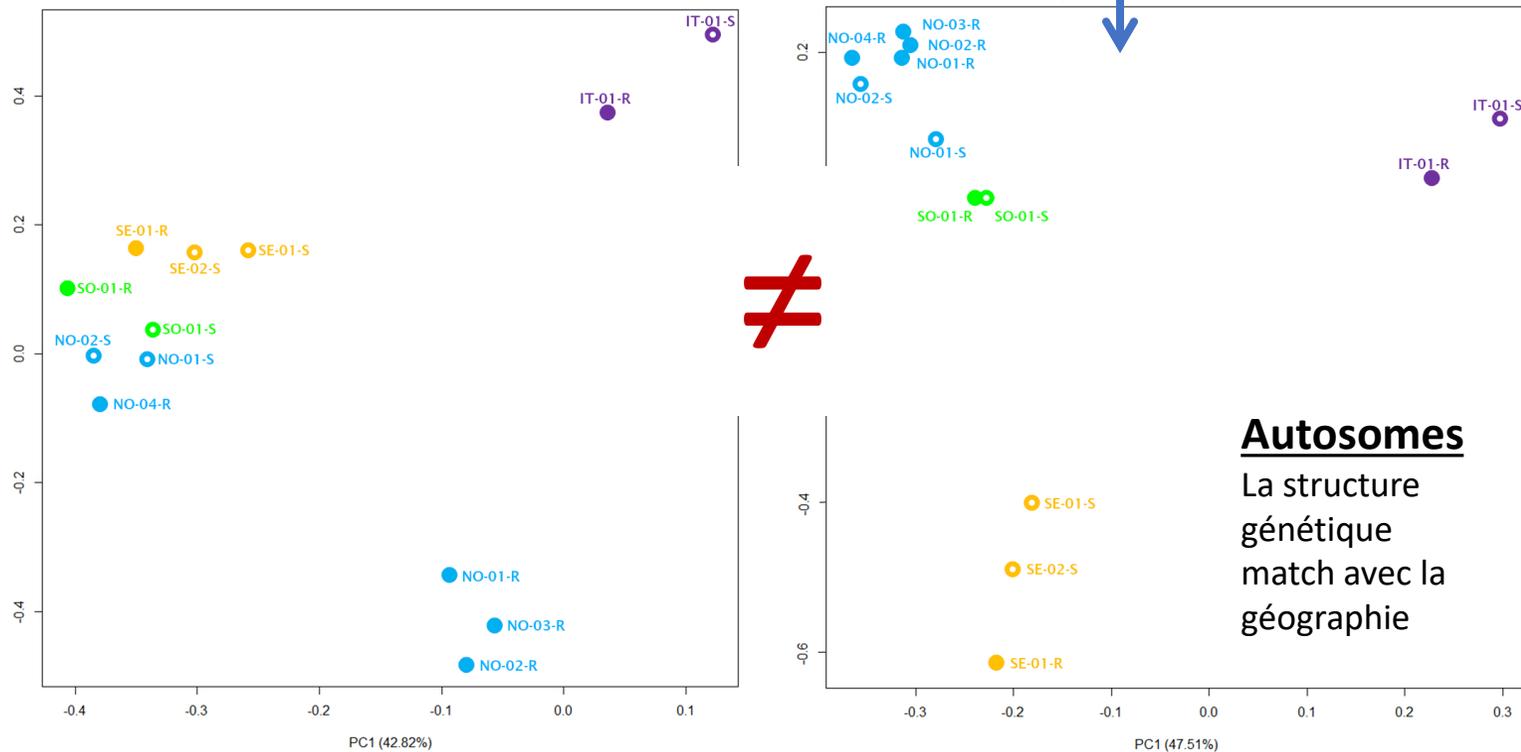
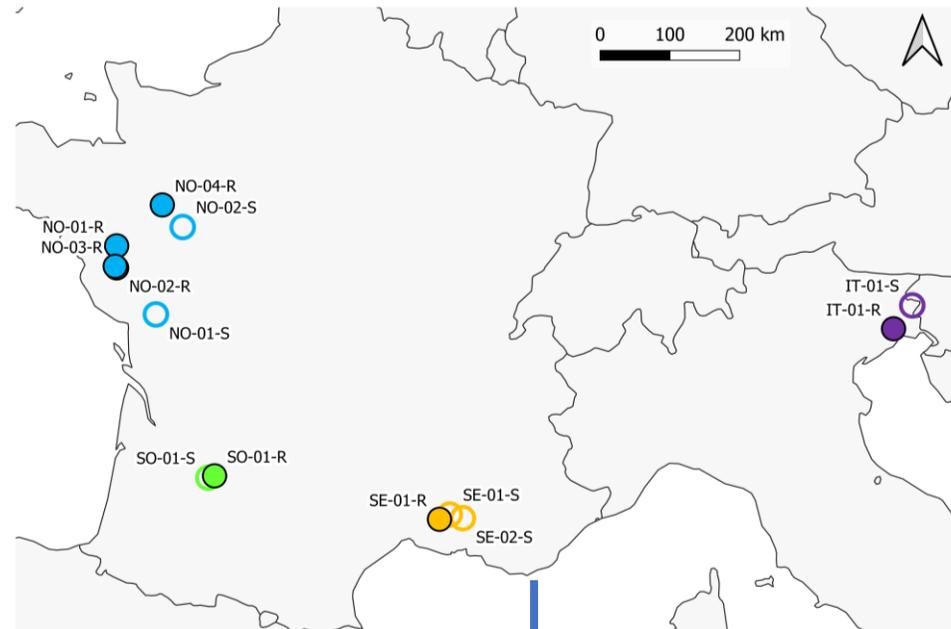


# Résultats



## Chromosome Z

Structure génétique montre des effets de l'éloignement géographique **et** de la résistance

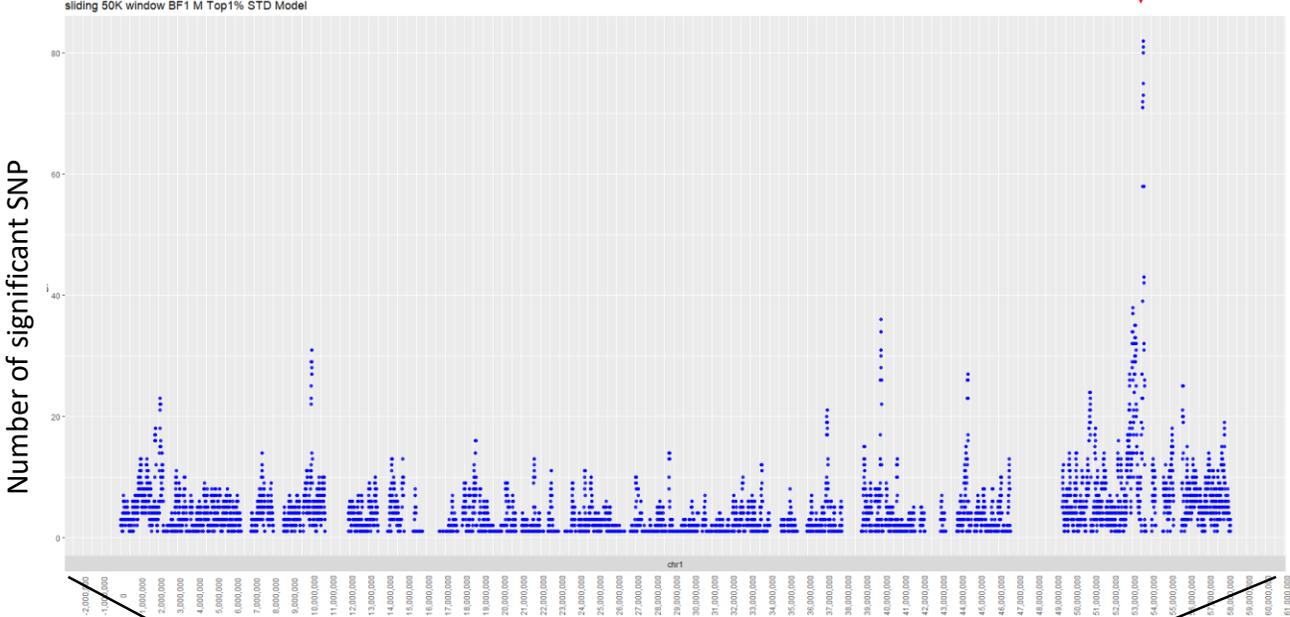


## Autosomes

La structure génétique match avec la géographie

# Résultats sur le chromosome Z

13 pop sauvages



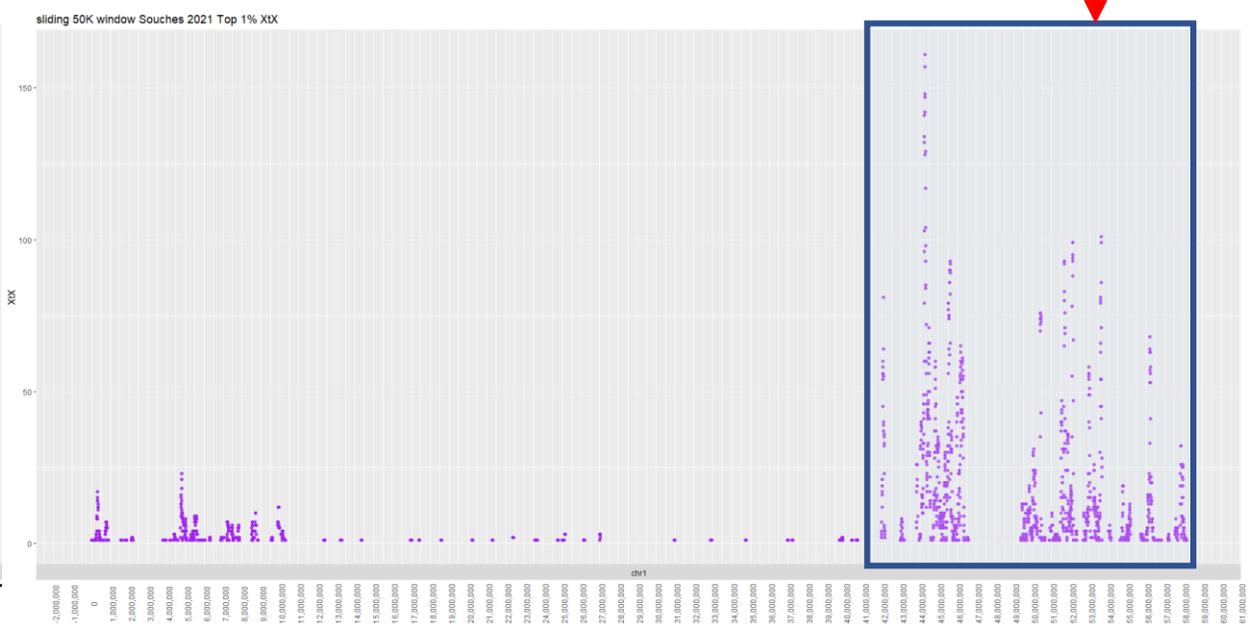
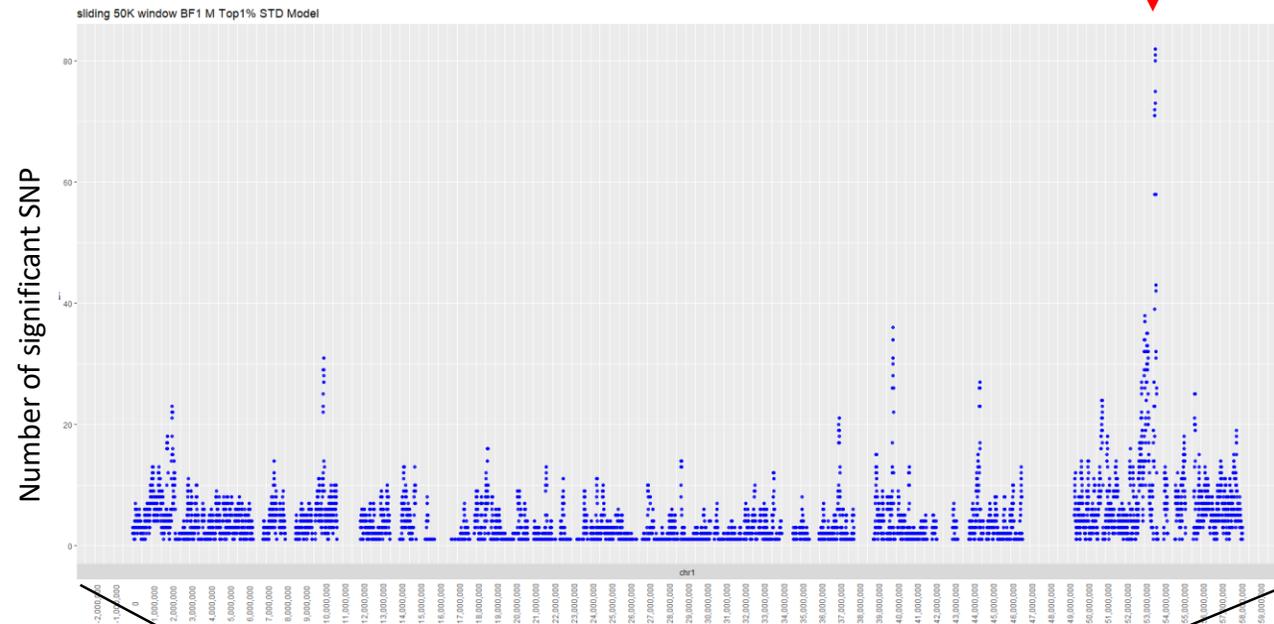
Nombre de SNP dans des fenêtres glissantes de 50Kb

# Résultats sur le chromosome Z

13 pop sauvages



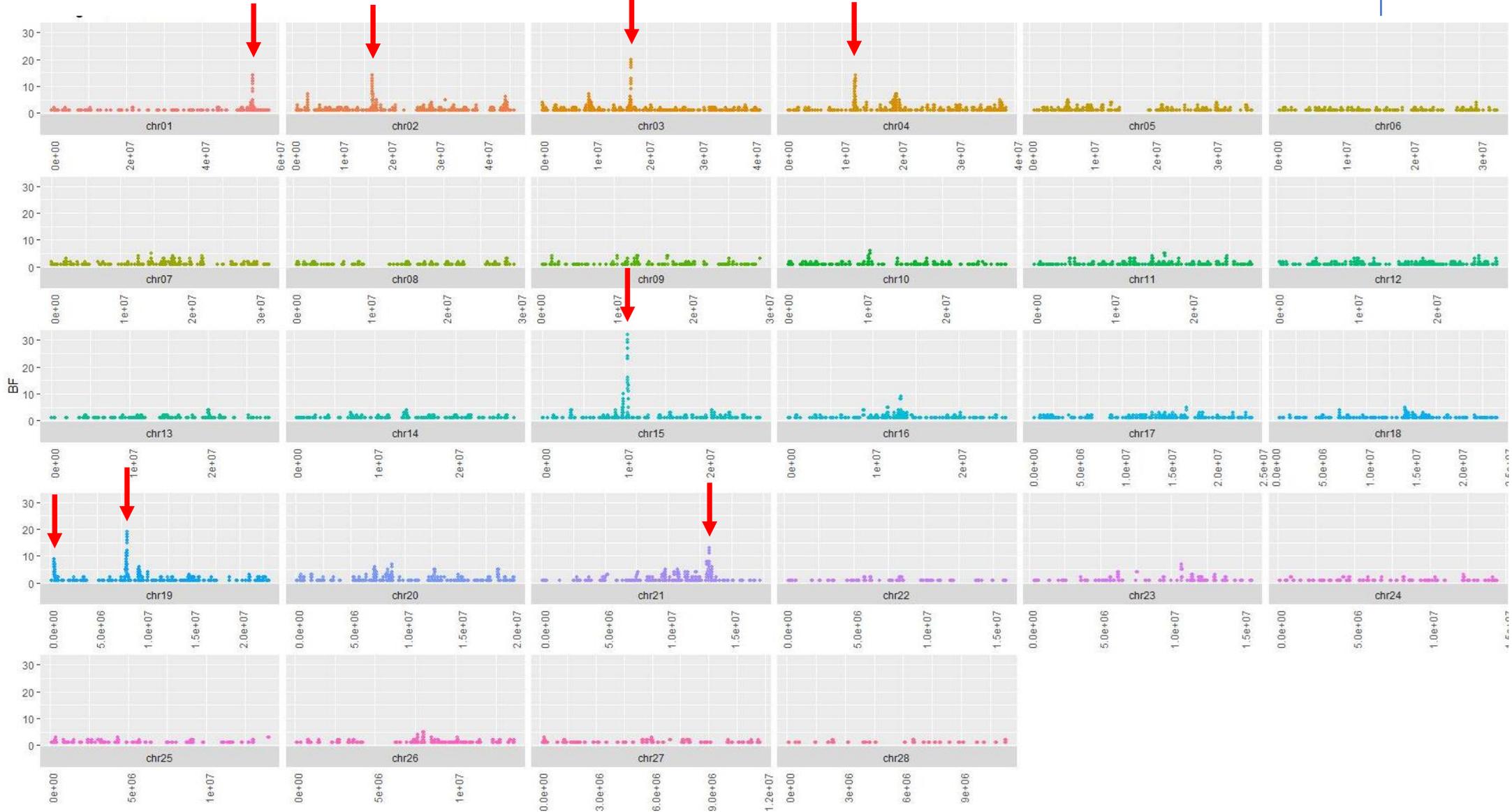
2 souches de laboratoire



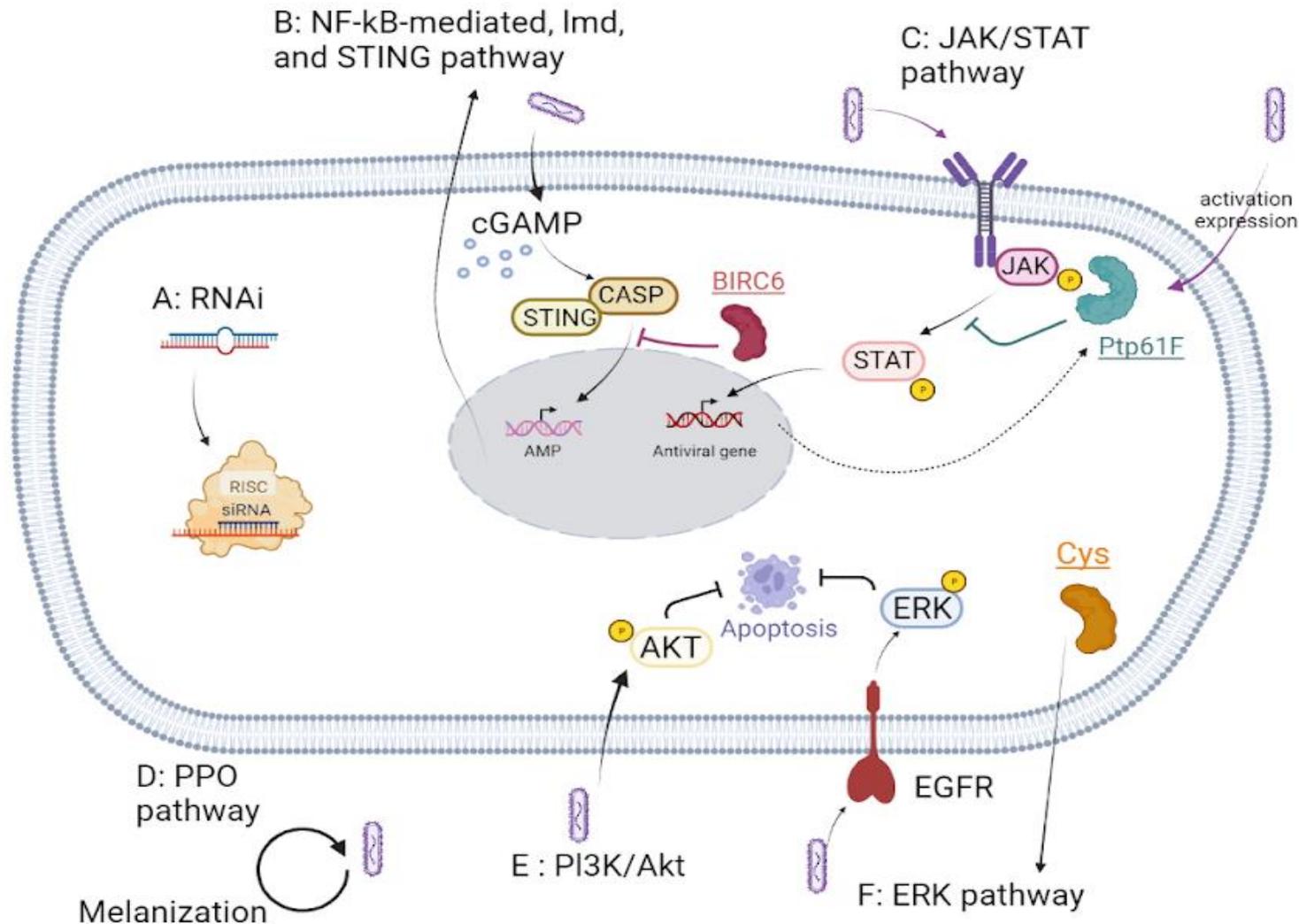
Nombre de SNP dans des fenêtres glissantes de 50Kb

Une zone plus large est hautement corrélée à la résistance → autostop génique

# Résultats tout le génome (sur pop sauvages)



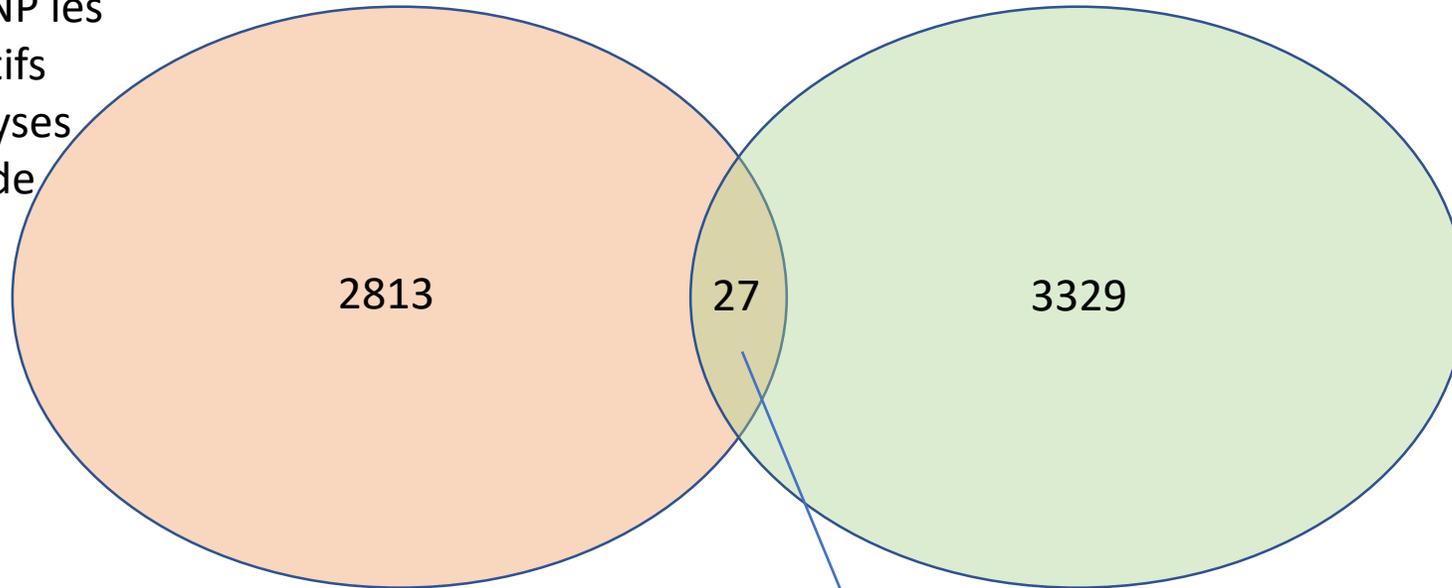
# 3 gènes candidats impliqués dans immunité



- © *Ptp61F* : Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 61F: **Inhibiteur de 3 voies de l'immunité**, tyrosine phosphatase, inhibiteur de la prolifération cellulaire, inhibiteur de l'insuline, inhibiteur de la réponse au stress, **inhibiteur de l'apoptose**, acteur dans la prolifération cellulaire
- © *BIRC6* (*Apollon*, *BRUCE*): Baculoviral IAP repeat-containing protein 6 : **Protéine anti-apoptotique qui peut réguler la mort cellulaire** en contrôlant les caspases et en agissant comme une protéine ligase E3 ubiquitine, organisation des microtubules, développement placentaire
- © *Cys*: Cystatin-like protein : inhibiteur de protéase dans l'espace extracellulaire, régulateur de l'apoptose

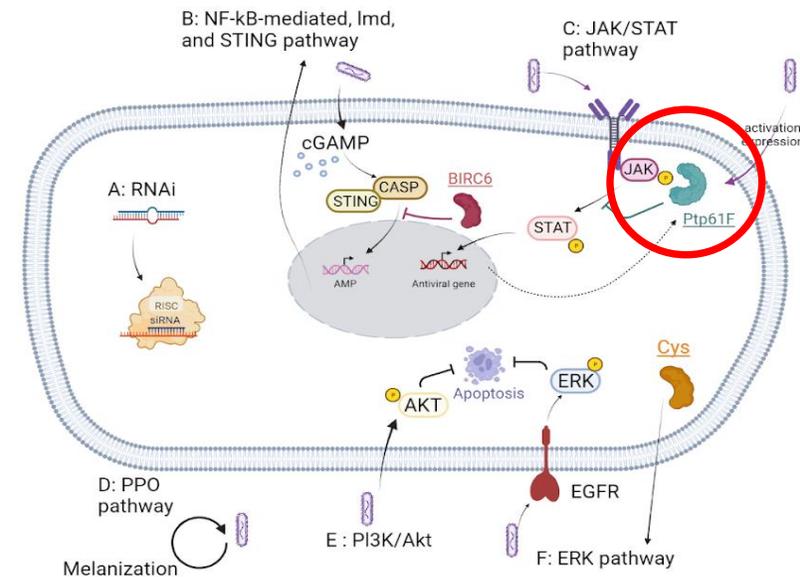
# 1 candidat privilégié

Les 1% des SNP les plus significatifs dans les analyses des souches de labo



Les 1% des SNP les plus significatifs dans les analyses des populations sauvages

Un gène candidat connu pour être impliqué dans la voie de l'immunité : PTP61F



# Conclusion/discussion

- © Un « smoking gun » sur le chromosome Z qui doit être confirmé par validation fonctionnelle (RNAi en cours...)
- © 7 autres régions génomiques dans les autosomes qui semblent impliquées aussi → Quid des parties non codantes ?
- © GWAS ne peut pas présumer de la force de l'effet provoqué (detection de genes à effets partiels)

Résistance de type 4 et 5 (au  
CpGV-M, CpGV-V15 et CpGV-R5)

# Les résistances multiples

Surveillance des résistances en France, Italie et Allemagne.

En 2020, découverte de populations résistantes à **M, V15 et R5**. (Siegwart et al., 2020).

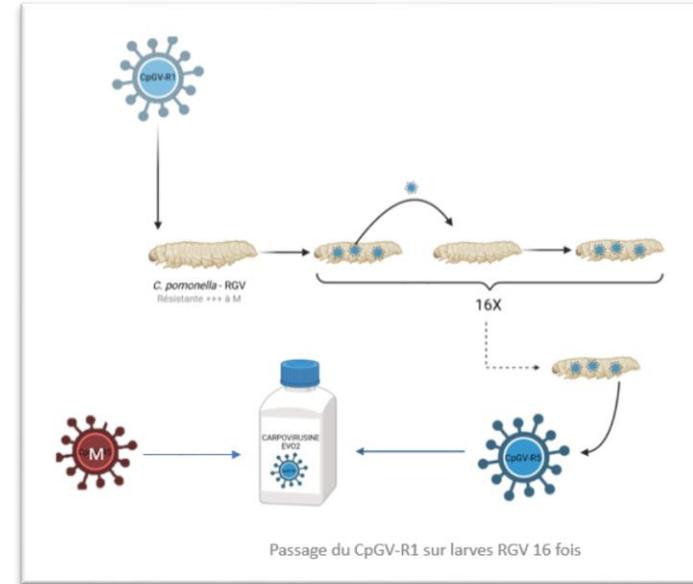
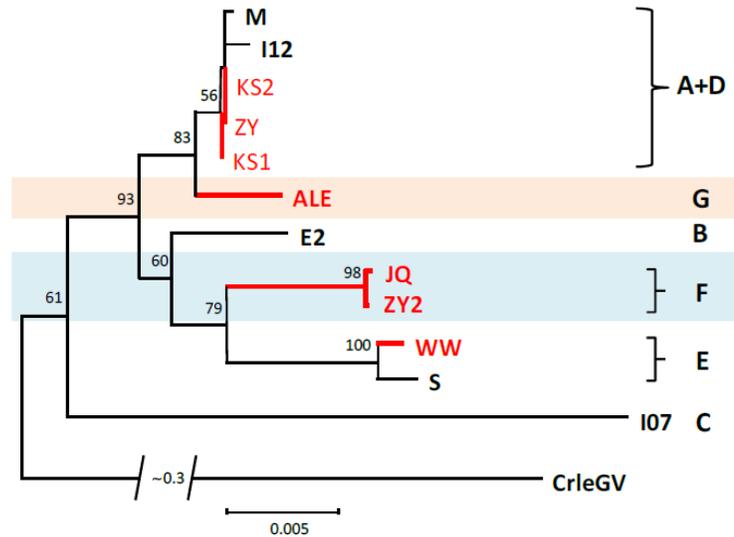
Comment adapter la stratégie de lutte contre des populations multirésistantes ?

		CpGV-M				CpGV-V15				CpGV-R5			
		nb	Mortalité cor (%)	$\chi^2$	Signif.	nb	Mortalité cor (%)	$\chi^2$	Signif.	nb	Mortalité cor (%)	$\chi^2$	Signif.
Résistance de type 5	IT-UD-001	50	0	437	***	51	59,1	185,4	***	51	64,2	47,9	***
	IT-UD-002	46	23,5	215,1	***	47	78,2	42,2	***	47	34,5	162,1	***
	44-002	66	37,5	153,1	***	81	40,5	623,3	***	80	58,0	103,8	***
	ZA 231	64	7,4	581,5	***	62	76,5	80,4	***	54	100,0	1,4	-
	44-001	47	36,5	194,5	***	41	18,4	679,4	***	44	88,1	2,4	-
	PA-13-01	108	46,1	231,7	***	86	88,5	11,0	***	109	100,0	2,5	-
	IT-UD-004	56	48,4	146,1	***	45	78,6	40,4	***	48	100,0	1,3	-
	47-001	45	73,1	21,2	***	48	82,4	30,0	***	48	100,0	1,3	-
	38-001	69	74,7	20,9	***	93	89,9	16,2	***	69	100,0	1,3	-
	44-003	60	11,4	353,4	***	48	86,4	8,3	**	57	100,0	1,1	-
	47-002	55	16,3	338,6	***	53	95,0	1,1	-	51	100,0	1,2	-
	30-001	116	19,5	575,9	***	90	100,0	0,4	-	102	100,0	1,8	-
	34-001	128	26,5	552,7	***	116	100,0	0,9	-	99	100,0	1,4	-
	IT-AL-003	41	30,4	246,3	***	0				0			
	IT-AL-006	38	31,9	200,9	***	0				35	100,0	1,1	-
	ZA 185	46	33,9	165,3	***	0				30	100,0	0,3	-
	34-002	67	35,1	286,7	***	77	100,0	1,0	-	79	94,2	0,1	-
	85-003	56	50,2	139,3	***	45	100,0	0,4	-	41	100,0	0,9	-
	72-001	45	61,7	56,0	***	55	96,1	0,6	-	45	94,5	0,0	-
	PA-04-02	48	64,7	46,4	***	48	100,0	0,5	-	60	96,1	0,1	-
IT-PV-005	49	69,4	33,2	***	49	100,0	0,5	-	58	95,5	0,0	-	
84-003	60	82,7	7,7	**	60	100,0	0,5	-	61	100,0	1,3	-	
2018-84-001	85	83,4	10,5	**	78	100,0	0,6	-	72	94,9	0,0	-	
13-002	66	88,3	2,4	-	72	90,6	8,8	**	66	100,0	1,3	-	
IT-UD-003	49	88,0	2,6	-	42	100,0	0,4	-	45	100,0	1,1	-	
84-002	29	89,7	0,8	-	0				0				
84-001	45	94,9	0,0	-	59	100,0	0,8	-	43	100,0	1,2	-	
13-003	64	96,4	0,2	-	47	100,0	0,4	-	50	94,3	0,0	-	
DE-BW-005	47	100,0	1,2	-	46	100,0	0,4	-	46	93,7	0,1	-	
ref	47	100,0	1,3	-	47	100,0	0,5	-	51	95,7	0,0	-	
13-001	59	100,0	1,9	-	44	100,0	0,4	-	51	100,0	1,5	-	
85-004	41	100,0	1,0	-	45	100,0	0,5	-	0				
49-002	21	100,0	0,5	-	0				0				

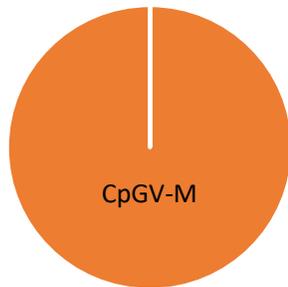
Siegwart et al., 2020

Des résistances qui semblent être liées entre elles

# Que contiennent les isolats viraux ?

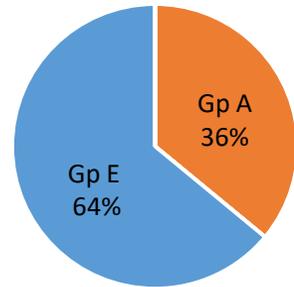


Carpovirusine2000, Madex



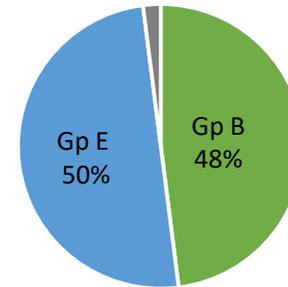
■ Groupe A ■ Groupe B ■ Groupe E ■ autre

Carpovirusine EVO2



■ Groupe A ■ Groupe B ■ Groupe E ■ autre

MadexPro



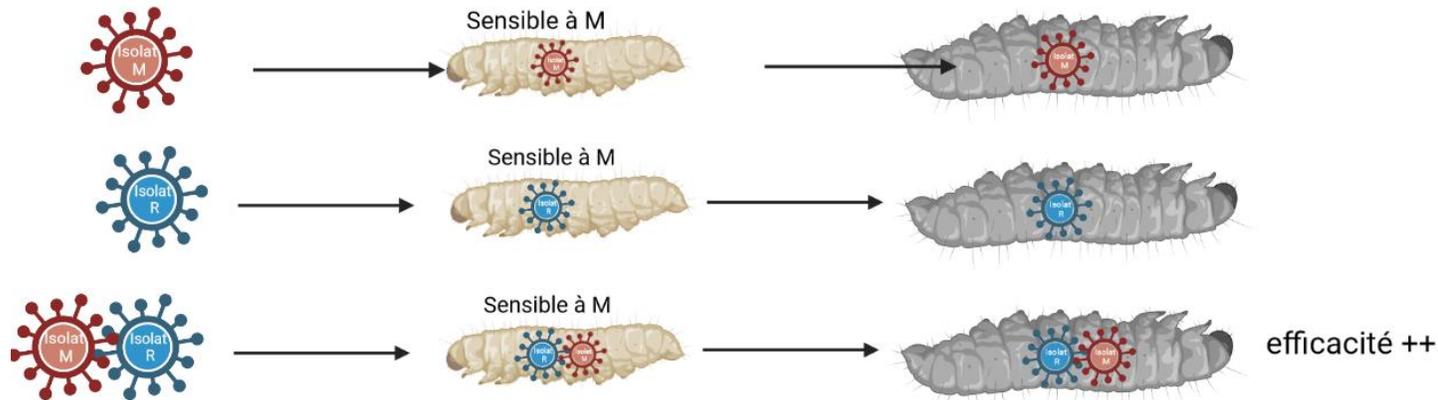
■ Groupe A ■ Groupe B ■ Groupe E ■ autre

Y-a-t-il un intérêt à utiliser des mélanges de CpGV sur le terrain ?

# Intérêt des mélanges d'isolats

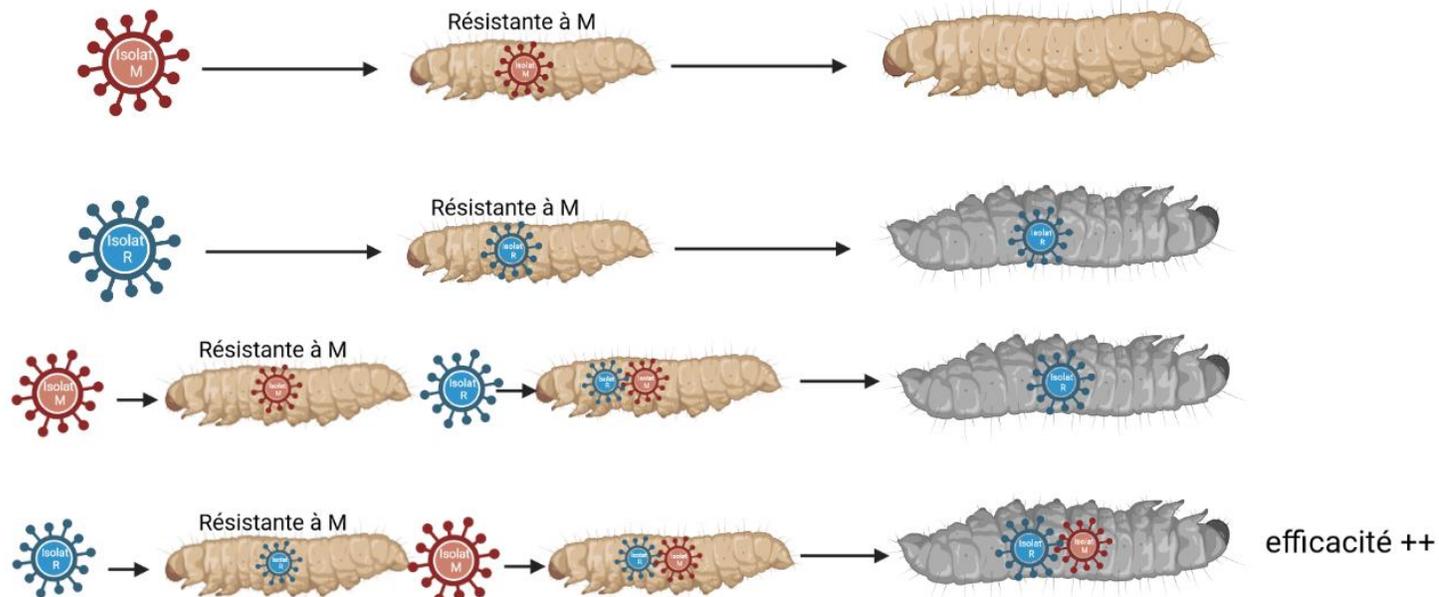
Une réponse rapide a été donnée au problème, mais des questions de durabilité perdurent.

Larves sensibles à CpGV-M



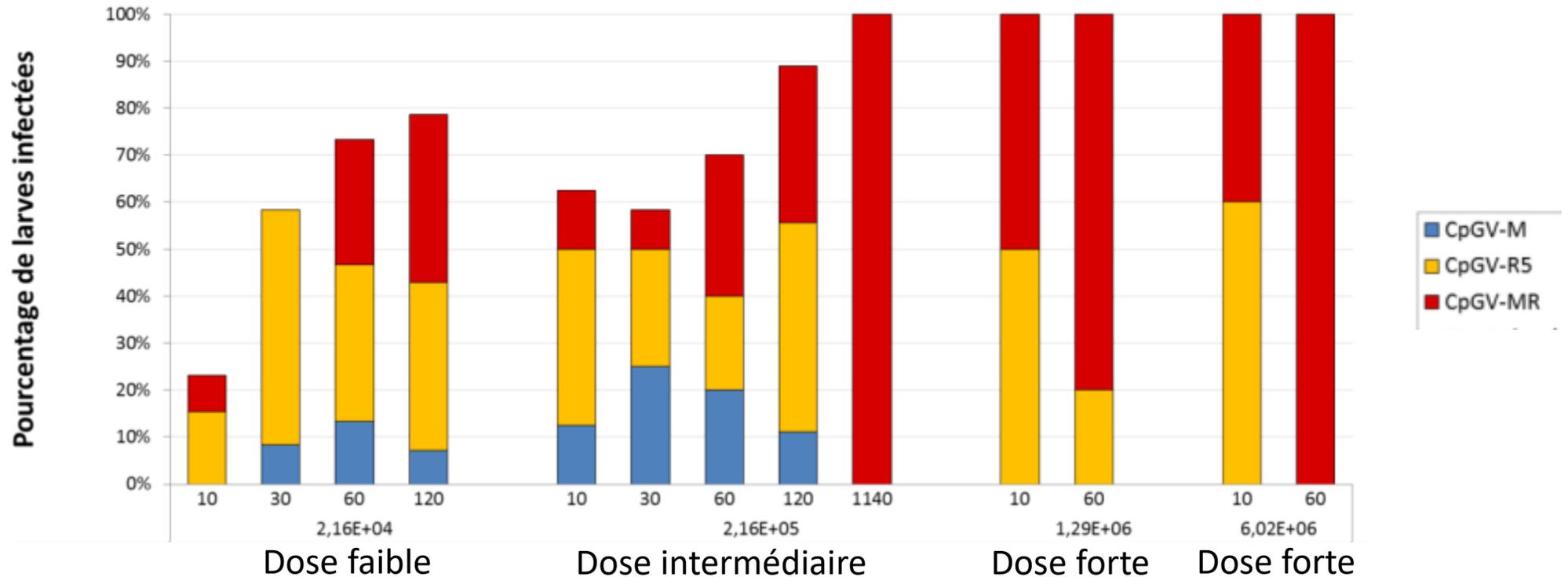
=> Interactions entre les isolats viraux

Larves RGV – résistantes au CpGV-M



# Infections multiples sur larves sensibles

Occurrence d'infections multiples chez des larves sensibles au CpGV-M en fonction du temps et de la concentration



Mélange de virus (36% de CpGV-M et 64% de CpGV-R5)

# Objectif de la thèse de Léa : GESTION DES MULTIRÉSISTANCES

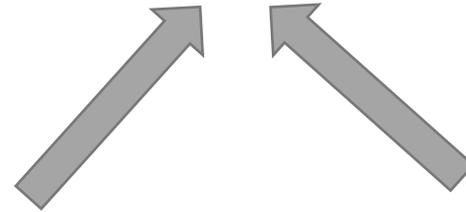


## Contrôler la multirésistance

- Tester différents isolats viraux et mélanges d'isolats sur les lignées résistantes
- Mettre au point méthode de coévolution entre individus résistants et nouveaux mélanges viraux pour contourner durablement la multirésistance

## Comprendre les bases génétiques de la multirésistance

- Ségréger les bases génétiques des résistances spécifiques aux 3 isolats  
⇒ Lignées avec différents profil de résistance
- Connaître les coûts à la résistance
- Marqueurs génétiques des résistances (détection et adaptation du traitement instantané)



Encore tout à découvrir...

# Thank you ...



Bertrand  
Gauffre



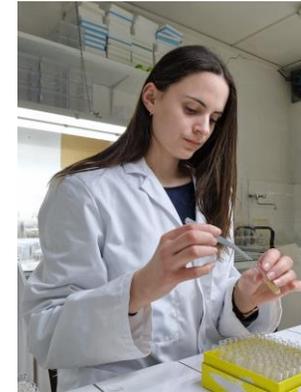
Jérôme  
Olivares



Sandrine  
Maugin



Mathieu  
Gautier



Léa  
Gingueneau

Christine  
Blachere-  
Lopez



Miguel  
Ferber-Lopez

