



Doctorat ParisTech

THÈSE

pour obtenir le grade de docteur délivré par

L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech)

Spécialité : Biologie des organismes

présentée et soutenue publiquement par

Nicolas GLASER

Le 05 septembre 2013

Contribution des sens chimiques à l'adaptation à l'environnement : une étude transcriptomique chez la noctuelle *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera : Noctuidae)

Directeur de thèse : **Emmanuelle JACQUIN-JOLY**

Co-encadrement de la thèse : **Paul-André CALATAYUD**

Jury

Mme. Christine BALY, Dr.,

Neurobiologie de l'Olfaction et Modélisation en Imagerie (NOeMI), UR1197, Biologie de l'Olfaction et Biosenseurs (BOB), Bat. Biotechnologies, Domaine de Vilvert, F-78350 Jouy-en-Josas

M. Angel GUERRERO, Pr,

Chemical Ecology Unit Department of Biological Chemistry and Molecular Modeling ,IQAC, CSIC , Jordi Girona 18-26, 08034-Barcelona

Mme. Myriam Harry, Pr,

Université Paris-Sud 11, 91405 Orsay Cedex

Mme. Juliette RAVAUX, Dr.

Université Pierre et Marie Curie, équipe AMEX, UMR 7138 systématique, adaptation et évolution

M. Frédéric MARION-POLL, Pr.

Physiologie de l'Insecte Signalisation et Communication, INRA, Versailles

Mme. Emmanuelle JACQUIN-JOLY, Dr.,

Physiologie de l'Insecte Signalisation et Communication, INRA, Versailles

M. Paul-André CALATAYUD, Dr.,

IRD, UR 072, ICIPE, NSBB Project, PO Box 30772-00100, Nairobi, Kenya

AgroParisTech

UMR 1272 Physiologie de l'Insecte, Signalisation et Communication

Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur

Encadrant

Encadrant

« This is the end... »

Ces 3 années sont passées à toute vitesse. Je ne l'aurais pas cru au début de cette thèse. 3 ans ça me paraissait si long... Mais ces nombreux mois ont été très riches en expériences et cette richesse tient aux nombreuses personnes qui y ont participé au travers de discussions et autre. Et ce sont toutes ces personnes que je vais remercier à présent. Je précise par avance que l'ordre n'a pas d'importance ici (ceux qui ont vu mon bureau peuvent témoigner du fait que cette règle s'applique pour presque tout avec moi...).

Cependant, il me paraît tout de même juste de commencer par les grands initiateurs de ce projet. Je remercie d'abord Myriam Harry qui a lancé l'ANR adaptanthrop et ainsi permis de financer ce projet. Et bien entendu, mes plus grands et plus chaleureux remerciements vont à mes 2 chefs, Emmanuelle Jacquin-Joly et Paul-André Calatayud qui m'ont tous les deux encadré, soutenu, supporté, encouragé, aidé... (la liste est trop longue !) pendant ces 3 années. Je remercie d'autant plus Emma, qui a réussi à s'affranchir de son rôle de directrice de thèse (multiplié par 2 avec Erwan) en plus de ses fonctions et responsabilités supplémentaires en tant que directrice adjointe d'unité, mais j'insiste également pour Paul qui a réussi à toujours être disponible malgré les milliers de kilomètres nous séparant. D'ailleurs, ta bonne humeur et ton enthousiasme m'ont énormément manqués après ton départ.

Mes pensées vont maintenant vers 2 personnes qui ont été présentes du début à la fin (ou presque). Je pense à Erwan qui m'a abandonné bien trop tôt mais a été mon « compagnon de cellule » (Oui c'est du plagiat de tes propres remerciements) dès le premier jour. Nous avons partagé 6m² pendant de nombreux mois et j'ai eu beaucoup de plaisir à discuter avec toi, partager des monuments de musique, des Monaco, chanter le retour de Gzor, s'extasier devant Crom, répéter la chorégraphie de Gang Nam Style sur un trajet mémorable Versailles-Gif, etc... La deuxième personne (toujours pas d'ordre de préférence !), c'est MJ !!! Ben oui, tu vas pas t'en tirer comme ça !!! J'ai eu très peur à ta soutenance, quand j'ai réalisé qu'il était possible que tu ne sois plus à Versailles... Mais finalement tu es revenue, à mon grand soulagement, et tu as repris ta place de co-pilote. Je te remercie de m'avoir écouté déblatérer, au final pendant des heures, sur la généalogie des seigneurs Sith, la signification profonde de leur doctrine, sur mes exploits aux jeux vidéo et mes diverses énigmes informatiques (et humaines). Je te remercie de ta patience et de ta tolérance, de ton soutien dans les moments difficiles. Nos trajets Versailles-Paris et tes conseils avisés me manqueront énormément.

Je remercie aussi Elodie pour sa compagnie aussi bien lors des pauses café que lors des dissections de chenilles, pour m'avoir également supporté et soutenu, je sais que c'est pas rien avec ma joie quotidienne, ma bonne humeur légendaire et j'en passe... Merci également à Nico (non pas moi !), le gestionnaire de choc ! J'ai passé également de très bons moments en ta compagnie. Enfin du temps de ta jeunesse puisque t'es un Papa maintenant ! Et j'en profite du coup pour remercier toute la joyeuse bande qui l'accompagne : Fabien, Cyril (merci pour les figuiers), Nono...

D'un point de vue plus professionnel mais pas plus désagréable, je remercie le personnel de PISC, notamment Michel avec qui j'ai eu de nombreuses discussions intéressantes et également Fred qui m'a fait l'immense plaisir d'accepter de faire partie de mon jury. Merci également à Marie mon prof particulier de clonage et à tout ceux qui m'ont apporté leur aide lors de ces 3 ans, je pense à Christelle, Isabelle, Corinne et aussi à Elisabeth et Yaména pour ce que j'appelle les paperasses administratives. Un immense merci à Brigitte pour son aide et pour m'avoir consacré énormément de temps pour les SPME et avec qui j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler. Merci également Ené pour m'avoir également aidé pour les analyses.

Je remercie également Lisa qui continue étonnement à me parler alors qu'on ne s'est cotoyé que pendant ma mauvaise période. Mais oui ! Je suis un barbare inculte !

Merci également Adrien pour ce séjour inoubliable à Naples et ces moments inavouables de GAMER !!! Je n'oublie pas Arthur, qui est arrivé bien tard et a partagé mon bureau quelques mois, je te souhaite bonne chance pour la suite. Je vais finir cette première partie en remerciant ceux que je n'ai pas cités plus haut : Alexandre, Antoine, Alexandra, Alice, Alessia, Moutaz, Ali, Betty, Adrien L., tous les Nico qui restent, les Parisiens que je n'ai pas vu beaucoup, Olivier... Bref un grand merci à tous les gens de PISC qui m'ont aidé et ont pris la peine de me connaître.

La deuxième partie concerne maintenant les gens de la partie LEGS IRD GIF ICIPE. Je commence par remercier le grand chef Jean-François Silvain, qui m'a accueilli dans son unité mais également pour sa bonne humeur et son écoute. Merci également Annie pour m'avoir sauvé un nombre incalculable de fois. Je remercie également Bruno Le Ru pour son implication dans le projet, notamment pour les sésamies du Kenya et avec lui le personnel de l'ICIPE à Nairobi. Je remercie Claire pour m'avoir aidé et guidé pour mes analyses de qPCR. Merci à Ferial et Nicolas Joly pour les élevages à Gif. Merci également Floriane pour y avoir participé lors des périodes difficiles de maintien des populations. Je remercie aussi les chercheurs de Gif avec qui j'ai eu l'occasion d'interagir : Laure, Stéphane, François, Bastien (pour les dissections de cerveaux !)... Et également merci à tout le personnel du LEGS qui m'a permis de passer ces 3 ans dans de bonnes conditions.

Je me dois de remercier également Erick Campan et son stagiaire Alban pour les collectes de chenilles à Toulouse, et spécialement Alban qui l'a fait avec gentillesse dans un moment extrêmement difficile.

Un immense merci à Kathy-Ann Koralek qui a organisé l'université d'été à Naples et a fait de ce séjour un moment aussi enrichissant d'un point de vue scientifique qu'inoubliable.

Je remercie également les membres de mon comité de thèse qui m'ont guidé et conseillé. Et spécialement Fabrice mon mentor bioinfo, qui m'a beaucoup aidé, beaucoup appris et qui m'a sauvé des semaines d'assemblages. J'en profite pour remercier Aurore, partie outre-manche, qui m'a énormément aidé pour les analyses Illumina.

Je remercie mes parents et mes frères pour leur soutien et leurs encouragements. Merci ma Juju pour avoir été à mes côtés tout ce temps, même si j'ai cassé ta voiture avec un piéton...

Maintenant je finis en adressant mes sincères remerciements aux membres de mon jury qui ont accepté d'évaluer mon travail et spécialement mes rapporteurs, à qui je vais monopoliser un peu de temps cet été...

Merci aussi les sésamies pour m'avoir appris que rien n'était jamais gagné ! Et pardon si j'en oublie.

SOMMAIRE

<i>Liste des abbreviations :</i>	7
Introduction Générale	9
Chapitre 1 : Introduction Bibliographique	13
<i>I. Anthropisation ou action de l'homme sur les milieux naturels</i>	15
1. Actions directes : modifications des milieux naturels	15
2. Actions indirectes : changements globaux	16
<i>II. Communication chimique chez les insectes</i>	18
1. Les molécules semiochimiques	18
A. Les molécules allélochimiques	19
a. Les composés volatils	19
b. Les composés non volatils	20
B. Les phéromones	22
a. Différents types de phéromones	22
b. Biosynthèse des phéromones sexuelles	24
i. Synthèse des acides gras	24
ii. Désaturases	24
iii. Synthèse du groupement fonctionnel	25
iv. Production d'un mélange phéromonal spécifique	26
2. Organisation générale du système chimiosensoriel	27
A. Systèmes chimiosensoriels périphérique et central	27
B. Les principaux types de sensilles chimioréceptrices	28
<i>III. Mécanismes moléculaires de la chimioréception</i>	30
1. Mode de fonctionnement des sensilles olfactives	30
A. Mécanismes généraux	30
B. Les protéines de liaison	32
a. Les « odorant-binding proteins » ou OBP	32
b. Les « chemosensory proteins » ou CSP	34
C. Les récepteurs olfactifs et ionotropiques	35
a. Les récepteurs olfactifs de type OR	35
b. Les récepteurs ionotropiques (IR)	40
D. Les autres acteurs de la réception olfactive	41
a. Sensory Neuron Membrane Protein ou SNMP	41
b. Odorant Degrading Enzyme (ODE)	42
2. Mode de fonctionnement des sensilles gustatives	43
A. Mécanismes généraux	43
B. Les récepteurs gustatifs	44
<i>IV. Evolution des gènes chimiosensoriels</i>	45
1. Evolution des gènes codant pour les OR et GR	46
2. Evolution des gènes codant pour les OBP et CSP	48
3. L'exemple de <i>Drosophila sechellia</i>	49
<i>V. Présentation du modèle d'étude <i>Sesamia nonagrioides</i>, la noctuelle du maïs</i>	51
1. Statut taxonomique	51
2. Plantes hôtes et distribution	52
3. Biologie et développement	53
4. Moyens de lute	54
5. Etat des connaissances sur la communication chimiosensorielle de <i>Sesamia nonagrioides</i>	56
A. Sémiochimiques actifs sur le comportement de <i>Sesamia nonagrioides</i>	56

a.	Phéromone sexuelle	56
b.	Biosynthèse de la phéromone sexuelle de <i>S. nonagrioides</i>	58
c.	Allélochimiques	59
B.	Que connaît-on des mécanismes physiologiques et moléculaires de la réception chimiosensorielle chez <i>S. nonagrioides</i> ?	61
C.	Souches utilisées : origine et liens génétiques	62
VI.	<i>Objectifs de la thèse</i>	63
1.	Premier objectif : Identifier un modèle d'étude adapté.....	63
2.	Deuxième objectif : cumuler des données moléculaires sur le modèle <i>S. nonagrioides</i> par l'établissement d'un transcriptome de référence :	65
3.	Troisième objectif : Identifier les gènes chimiosensoriels de <i>S. nonagrioides</i> par l'exploitation bioinformatique du transcriptome	65
4.	Quatrième objectif : Identifier des gènes dont l'expression est différente entre souches collectées sur plantes sauvages et souches collectées sur plantes cultivées, afin de mettre en évidence des gènes candidats impliqués dans l'adaptation de l'insecte.....	66
VII.	<i>Méthodologies</i>	68
1.	Elevage.....	68
2.	Séquençage haut débit	69
A.	Séquençage 454.....	69
B.	Séquençage Illumina	73
3.	Bioinformatique.....	77
A.	Assemblage.....	77
B.	Annotation	77
C.	Recherche de nouveaux gènes chimiosensoriels.....	78

Chapitre II : Etablissement du transcriptome chimiosensoriel et identification de gènes candidats à la chimioréception chez le foreur des tiges, *Sesamia nonagrioides* 79

Chapitre III : Expression différentielle des transcriptomes chimiosensoriels de deux populations du foreur de tiges *Sesamia nonagrioides* 101

Chapitre IV. Discussion générale et perspectives 147

I.	Un lépidoptère : modèle d'étude adapté ?.....	148
II.	Pourquoi un transcriptome de référence et comment a t'il été obtenu ?	150
III.	Methodologie : RNAseq versus μ Array.....	153
IV.	Analyse comparative de l'expression des gènes entre les deux populations par RNAseq	156
V.	Effet plante, effet géographique ou les deux ?.....	162

Conclusion Générale 165

ANNEXE 1..... 168

Références bibliographiques : 169

Liste des abbreviations :

CSP	ChemoSensory Protein
cVA	11-cis vacényl acétate
EST	Expressed Sequence Tag
GR	Gustatory Receptor
GTP	Gustatory Transport Protein
HEK	Human Embryonic Kidney
IR	Ionotropic Receptor
NRO	Neurone de Recepteur Olfactif
OBP	Odorant Binding Protein
ODE	Odorant Degrading Enzyme
OR	Odorant Receptor
ORco	Co-receptor
PBP	Pheromone Binding Protein
PDE	Pheromone Degrading Enzyme
PR	Pheromone Receptor
RNAseq	RNA sequencing
SNMP	Sensory Neuron Membrane Protein
TAGSC	The <i>Anopheles</i> Genome Sequencing Consortium

Introduction Générale

Ce travail de thèse s'inscrit dans un projet plus large du programme ANR « sixième extinction » : le projet « ADAPTANTHROP » coordonné par Myriam Harry du laboratoire LEGS (CNRS, Gif-sur-Yvette). Ce projet ANR s'intéresse à l'adaptation des insectes aux anthroposystèmes. Son objectif est d'évaluer l'impact de l'anthropisation sur des insectes qui ont eux-mêmes un impact sur l'homme. Il peut s'agir d'insectes ravageurs de cultures ou d'insectes vecteurs de maladies parasitaires. Dans le cadre de ce projet, différents modèles sont utilisés : des insectes tropicaux dont la noctuelle *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lepidoptera, Noctuidae), la teigne de la pomme de terre (un autre lépidoptère), des punaises hématophages de la sous-famille des *Triatominae* ainsi que la drosophile. L'adaptation à un nouveau milieu, et en particulier anthropisé, peut être corrélée à des modifications chez l'insecte d'ordre varié : des modifications dans les comportements, des modifications des fonctions biologiques, comme par exemple des modifications dans le système digestif (en cas de nouvel aliment) ou dans les systèmes sensoriels. Dans le cadre de mon projet de thèse, nous nous sommes focalisés sur l'étude de la contribution du système chimiosensoriel à l'adaptation à un environnement anthropisé chez *S. nonagrioides*. En effet, l'olfaction et la gustation sont des sens essentiels pour la vie de l'insecte puisque ces sens lui permettent de trouver de quoi se nourrir (principalement pour la larve), de trouver un partenaire pour la reproduction et de trouver un site d'oviposition (pour les adultes). Ainsi, des modifications dans le système chimiosensoriel peuvent entraîner des modifications dans la perception du milieu, et donc contribuer à des préférences. Inversement, l'adaptation à un nouveau milieu peut avoir des conséquences sur le système chimiosensoriel. Ce système est en effet plastique et modulable, et ceci au cours de la vie d'un individu (par exemple des sur- ou sous-expression de gènes chimiosensoriels sont observées après un jeûne prolongé, après l'accouplement, après une expérience olfactive....), mais aussi à plus long terme : des traces de duplication, pseudogénisation, pertes et gains de gènes chimiosensoriels sont très fréquemment observés chez les insectes. Ces constats illustrent la capacité d'adaptation à l'environnement chimique.

Le modèle *S. nonagrioides* a été choisi car il existe des populations sauvages et des populations anthropisées, ces dernières ayant dérivé des premières, offrant ainsi l'opportunité d'aborder l'effet de l'anthropisation. Cette noctuelle foreuse des graminées serait originaire en partie d'Afrique de l'Est. C'est un important ravageur des cultures de maïs en Europe méditerranéenne. En revanche, en Afrique de l'Est, et notamment au Kenya, *S. nonagrioides* n'attaque quasiment pas le maïs. En effet, elle est retrouvée principalement sur des graminées sauvages et des typhacées.

En tirant avantage des nouvelles technologies de séquençage haut-débit, nous avons choisi une approche transcriptomique avec pour objectifs :

- d'établir un transcriptome de référence de *S. nonagrioides*, permettant d'identifier les gènes chimiosensoriels de cette espèce. Grâce aux outils bioinformatiques et aux données déjà existantes chez d'autres lépidoptères, il est possible d'identifier des gènes candidats de récepteurs olfactifs ou gustatifs et de protéines de liaisons, principaux acteurs du système chimiosensoriel ;
- de comparer les niveaux d'expression de gènes entre les deux populations. Grâce au séquençage Illumina, il est possible d'identifier les gènes différentiellement exprimés entre les deux populations. Le transcriptome de référence permet alors d'identifier ces gènes.

Les résultats de cette étude constituent non seulement une ressource de collection de transcrits établie sur cette espèce, mais constituent également un premier pas vers la compréhension des mécanismes moléculaires permettant à un insecte de s'adapter à un nouvel environnement.

Après une introduction bibliographique sur l'anthropisation et sur la présentation des connaissances actuelles sur le système chimiosensoriel des insectes, les objectifs détaillés seront présentés et le modèle utilisé sera décrit. Les techniques utilisées, en particulier les méthodes de séquençage haut-débit seront détaillées (Chapitre 1). Puis les résultats seront exposés sous la forme de deux chapitres. Le chapitre 2 présentera l'établissement du transcriptome de référence de *S. nonagrioides* et la description des gènes chimiosensoriels de cette espèce, sous la forme d'un article déjà publié. Le chapitre 3 présentera l'approche RNAseq menée pour comparer l'expression des transcriptomes des deux populations, sous la forme d'un article prêt à soumettre. Enfin, le chapitre 4 présentera une discussion générale sur les résultats et les perspectives qu'ils apportent.

Chapitre 1 : Introduction Bibliographique

I. Anthropisation ou action de l'homme sur les milieux naturels

1. Actions directes : modifications des milieux naturels

Les débuts de l'action de l'homme sur les milieux naturels remontent au Néolithique (10000 à 8000 ans avant J.-C.) lors de l'apparition de l'agriculture (Suty, 2010). Ces nouvelles pratiques ont entraîné très rapidement de nombreuses modifications des milieux naturels. Celles-ci ont permis le passage des écosystèmes naturels complexes aux plus simples comme les agroécosystèmes (ANR ADAPTANTHROP, 2009). Mais si l'utilisation des terres est devenue un facteur clé de l'économie et des avantages sociaux des sociétés humaines, du moins à court terme, elle contribue de plus en plus à la dégradation des services écosystémiques par une extinction accrue des espèces, en particulier celles qui étaient liées étroitement au fonctionnement à long terme des écosystèmes naturels (ANR ADAPTANTHROP, 2009).

Il est donc de plus en plus admis que l'anthropisation a affecté les écosystèmes naturels en réduisant la biodiversité, en modifiant le paysage et en polluant l'environnement avec des xénobiotiques (ANR ADAPTANTHROP, 2009). La réduction de la diversité des systèmes écologiques, qui les rend moins enclins à faire face aux espèces envahissantes (Zavaleta and Hulvey, 2004), perturbe la pollinisation (Klein et al., 2003) et affaiblit la régulation des populations de ravageurs par les ennemis naturels (Perfecto et al., 2004 ; Tscharntke et al., 2005 ; Tylianakis et al., 2007). Tous ces procédés rendent les agroécosystèmes (en particulier les monocultures) moins résilients. Ils sont en général plus sensibles aux maladies et font parfois face à d'importantes attaques de ravageurs (Plant and Freudenberger, 2005). Aussi, l'introduction accidentelle de ravageurs exotiques, dans un contexte de mondialisation des échanges commerciaux, cause divers problèmes.

L'anthropisation se caractérise par une intensification de la pression sur les zones les plus favorables à l'agriculture, avec pour corollaire une accentuation de la disparition ou de la fragmentation des habitats, et l'abandon des zones les moins favorables (Moran, 2006). Les conséquences sur le fonctionnement des écosystèmes (notamment la production de denrées) et sur la biodiversité sont donc très importantes comme mentionnées précédemment, mais ne sont toutefois pas identiques d'un point du globe à l'autre (Houghton et al., 2001 ; McCarty, 2001). De

plus, l'anthropisation augmente les risques d'extinction des populations d'organismes vivants en raison des effets combinés de la réduction de la taille de leurs populations et de l'augmentation des risques de leurs isolements (ANR ADAPTANTHROP, 2009). La réduction des niveaux de flux génique entre populations résiduelles peut entraîner une diminution de la variabilité génétique et une augmentation des risques de consanguinité, et par conséquent, une réduction du succès de leur survie et de leur reproduction (Willi et al., 2007).

L'anthropisation peut être aussi une force motrice majeure pour la sélection naturelle en agissant sur des traits phénotypiques résultant de changements évolutifs et étant associés à des événements de spéciation et de radiations adaptatives (ANR ADAPTANTHROP, 2009). Les populations d'organismes vivants peuvent éviter leur déclin face à des changements environnementaux selon trois façons: en étant plastiques, en se déplaçant ou évoluant (Jackson and Overpeck, 2000), en quelque sorte en s'adaptant. Cette diversité modifiée/renouvelée a des effets profonds sur la composition et la structure génétiques des populations, des espèces et des communautés (Avisé, 1998; Hewitt, 2000).

2. Actions indirectes : changements globaux

Il existe un consensus pour admettre que les effets de l'activité humaine (agriculture, industrialisation, urbanisation,...) se traduisent à long terme par une augmentation des températures et que ce réchauffement global est en grande partie lié aux émissions de CO₂ et autres gaz à effet de serre (CH₄, N₂O,...) (Houghton et al., 2001). La température moyenne de la surface du globe a augmenté d'environ 0,8°C au cours du dernier siècle et de 0,6°C au cours des 30 dernières années. Dans son troisième rapport, le Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat (GIEC/IPCC) prévoit que le réchauffement planétaire se poursuivra au cours du 21ème siècle (Houghton et al., 2001). Les hypothèses retenues et les modèles utilisés envisagent pour les cent prochaines années une augmentation de 1,8 à 5,8°C. Les modèles les plus récents prévoient même des augmentations plus importantes (Blair et al., 2006; Lovelock, 2007). Le climat global de la Terre a, de tous temps, connu des alternances de phases de réchauffement puis de refroidissement, mais ce qui caractérise le changement global actuel, c'est sa rapidité et son amplitude. Le réchauffement climatique devrait se traduire par une perturbation du régime des

pluies avec une augmentation de la fréquence des événements extrêmes : alternance de périodes très pluvieuses ou très sèches.

Il est indéniable que les insectes répondent aux changements globaux, qu'il s'agisse de modifications anthropiques directes des milieux comme nous l'avons décrit précédemment (destruction et fragmentation des milieux peu ou pas anthropisés), ou des conséquences indirectes des activités humaines (réchauffement et augmentation de la teneur en CO₂ atmosphérique). Le contexte général actuel est marqué par la reconnaissance par la communauté scientifique d'un réchauffement d'origine anthropique sur tous les continents, à l'exception de l'Antarctique, et par la mise en évidence, pour les continents pour lesquels il y a suffisamment de données, de changements au niveau des systèmes physiques et biologiques qui peuvent lui être attribués (Rosenzweig et al., 2008).

Dans ce contexte, plusieurs publications ont mis l'accent sur les conséquences du réchauffement et de l'accroissement des teneurs en carbone atmosphérique sur les insectes phytophages. Il est intéressant de noter que le registre fossile peut nous fournir un élément de comparaison particulièrement intéressant (Currano et al., 2008). En effet, l'examen de feuilles fossiles indique que la quantité et la diversité des dommages d'insectes occasionnés aux feuilles d'angiospermes sont corrélées positivement avec les fluctuations des températures pendant la période allant de la fin du Paléocène au début de l'Eocène. Cette période a été marquée par un brutal pic thermique à la limite Paléocène-Eocène, il y a 55,8 Ma. Ce maximum thermique, comparable dans son ampleur au changement actuel, découlait d'un pic transitoire de pression partielle de CO₂. L'accroissement du CO₂ augmente le ratio C/N des plantes, réduisant ainsi la qualité nutritionnelle pour les phytophages (DeLucia et al., 2008; Hamilton et al., 2005), en exposant une culture de soja à une atmosphère enrichie en CO₂ ont montré que l'accroissement de la teneur en CO₂ entraîne un doublement des dommages foliaires causés par des coléoptères phytophages car ces insectes préfèrent se nourrir de feuilles à forte teneur en CO₂ due à une augmentation de la teneur en sucre. De plus, (Zavala et al., 2008) montrent que l'accroissement des teneurs en CO₂ réprime chez le soja l'expression de gènes de défense. Si on peut s'attendre à une augmentation des dégâts d'insectes dans un contexte d'accroissement des températures et de la teneur en CO₂, les effets de ces facteurs sur la diversité et l'abondance des insectes sont incertains. Currano et al. (2008) déduisent de l'analyse des données fossiles une tendance à l'accroissement de la diversité et de la densité de populations des insectes phytophages avec l'augmentation de la température. En revanche, les travaux de (Deutsch et al., 2008) indiquent qu'un réchauffement, même d'amplitude

faible, dans la zone intertropicale, aura des conséquences délétères particulièrement sur les insectes tropicaux car ceux-ci ont une plus faible tolérance thermique que les insectes vivant à des latitudes plus grandes. Ces auteurs concluent même à des risques d'extinction plus élevés pour les insectes tropicaux que pour les insectes des pays tempérés. En revanche, certaines espèces d'insectes présentant une alternative d'habitat où les conditions climatiques seront plus favorables pourront se maintenir. Ainsi, le processus d'établissement dans les habitations humaines de certaines espèces de vecteurs risque de s'amplifier et de conduire à l'émergence de maladies parasitaires dans des zones jusqu'alors épargnées.

II. Communication chimique chez les insectes

1. Les molécules semiochimiques

Les insectes communiquent entre eux et avec leur environnement par l'intermédiaire de signaux chimiques ou semiochimiques. Ces semiochimiques sont classés en différentes catégories selon leur nature, leurs effets et la nature du bénéficiaire (voir Mercier et al. [2013] pour plus de détails). Ils peuvent intervenir dans la communication intraspécifique (via les phéromones) (Karlson and Luscher, 1959) ou interspécifique (via les allélochimiques)(Whittaker, 1971). Les phéromones agissent directement sur le comportement (phéromones incitatrices ou de déclenchement) et/ou de manière différée sur la physiologie (phéromones modificatrices ou d'induction). Quant aux allélochimiques, ils peuvent être bénéfiques à l'émetteur (on parle d'allomones), ou au récepteur (on parle alors de kairomones). L'étude de ces substances est actuellement en plein essor, notamment dans les relations plantes-insectes.

Les molécules impliquées peuvent être volatiles ou non volatiles. Les composés volatils sont des produits pouvant se disperser dans l'air par diffusion à partir d'une zone d'émission (voir Thiéry et al. [2013a] pour plus de détails). Ce sont des composés carbonés qui passent spontanément à l'état gazeux sous des conditions de pression atmosphérique et de température ambiante. Ils sont généralement composés de 6 à 20 atomes de carbone (parfois un peu plus selon leur nature). Seules les substances ayant une masse moléculaire généralement comprise entre 100 et 200 Daltons sont volatiles. Les volatils permettent en général l'attraction/la reconnaissance d'un

congénère ou de la plante hôte à longue et à courte distance. Les composés de faible poids moléculaire ont tendance à se volatiliser les premiers et sont souvent impliqués dans l'attraction à distance des insectes vers la plante hôte (Bernays, 1994) ; alors que les composés à poids moléculaire plus élevé interviennent à courte distance. Au contact d'un congénère ou de la plante hôte, les molécules non-volatiles prennent le relais. En général, les composés volatils sont détectés par le système olfactif tandis que les composés non volatils le sont par le système gustatif. Les parties qui suivent prendront l'exemple des lépidoptères.

A. Les molécules allélochimiques

a. Les composés volatils

Plusieurs dizaines de milliers de composés volatils sont actuellement connus, dont une grande majorité est issue de trois grandes voies de biosynthèse (Knudsen et al., 2006):

- les terpènes : dérivés d'unités isoprène à 5 carbones (Fig. 1a). On distingue des monoterpènes (molécules en C10), des sesquiterpènes (molécules en C15) et des diterpènes (molécules en C20), ces derniers étant peu volatils. De nos jours, plusieurs milliers de terpènes naturels sont connus, parmi lesquels quelques molécules fréquentes comme l' α -pinène, β -pinène, le perrillène, le linalol, le limonène pour les monoterpènes, et le β -caryophyllène, l'ocimène, le germacrène pour les sesquiterpènes ;
- les composés aromatiques : molécules composées d'un cycle benzénique (Fig. 1b). Parmi les plus connues, on y trouve la vanilline (odeur de vanille) ou le cynamaldehyde (odeur de cannelle). Cette voie de biosynthèse est aussi à l'origine de composés plus complexes et non volatils comme la lignine ou les flavonoïdes ;
- les dérivés d'acides gras (Fig. 1c) ou composés aliphatiques : chaîne d'hydrocarbures terminée par un composé carboxylate. Les processus d'oxydations successives d'acides gras conduisent à la formation de dérivés d'acides gras volatils. Ces composés sont très communs dans les odeurs de feuilles (ou « green-leaf » volatiles) et correspondent, par exemple, à l'héxénol, l'undécane, le tridécane ou le pentadécane...

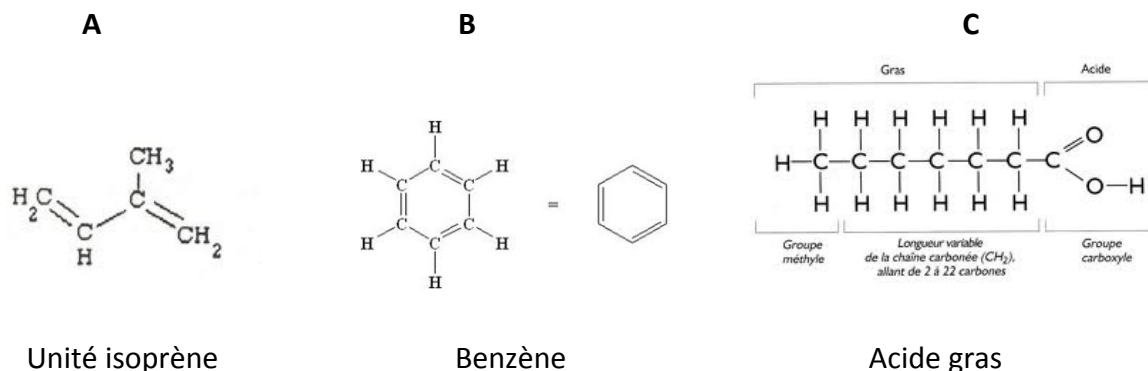


Figure 1. Formule chimique d'une unité isoprène (A), du benzène (B) et d'un acide gras saturé (C).

Notons que les volatils impliquent principalement les adultes (papillons) de part leur importante capacité de déplacement. Mais les chenilles, qui par leurs déplacements d'une plante à l'autre, sont aussi capables de détecter à distance l'odeur de leur plante hôte pour s'y diriger. Ces chenilles possèdent également des antennes, certes plus courtes et beaucoup moins riches en sensilles olfactives, capables de détecter des volatils (cf § III.1.A de ce chapitre).

b. Les composés non volatils

Lorsque l'insecte se trouve sur la surface de la plante, il est en contact avec des stimuli physiques et chimiques souvent étroitement associés (voir Calatayud et al. [2013a] pour plus de détails). Certains caractères sont indissociables, comme la composition chimique des cires épicuticulaires et la présence de trichomes. Les informations chimiques fournies par une plante sont prépondérantes, par exemple, dans le choix du site de ponte (Städler, 2002). Elles complètent les informations physiques pour former dans le système nerveux central l'image sensorielle d'une plante hôte recherchée par l'insecte (Dethier, 1982; Schoonhoven et al., 2005; Städler, 2002). De plus, Dethier (1982) a démontré la reconnaissance des plantes grâce aux « token stimuli » détectés par les sensilles, et c'est l'équilibre entre les effets positifs et négatifs qui détermine la préférence de l'insecte.

La cuticule végétale avec ses caractéristiques physico-chimiques est considérée comme la dernière étape au cours de laquelle l'insecte est en contact avec des stimuli qui lui permettent d'accepter ou de refuser la plante pour pondre et/ou se nourrir (Schoonhoven et al., 2005). Schématiquement, elle est composée de lipides solubles ou cires, et d'une matrice de cutine qui est un polymère lipidique insoluble. Parmi les cires, on distingue les cires épicuticulaires et intracuticulaires en fonction de leur voie de biosynthèse, leur localisation dans la cuticule, leur composition chimique et leur organisation structurale. Les cires épicuticulaires sont celles qui constituent la partie la plus superficielle des cuticules et qui sont en contact avec l'insecte lorsqu'il atterrit et/ou se déplace sur la plante. Il s'agit d'un film amorphe duquel émergent des structures cristallines constituées exclusivement de composés aliphatiques : alcanes, alcools, aldéhydes, acides gras et alkyl acétates. Cette composition les différencie des cires intracuticulaires, qui contiennent quant à elles une forte majorité de triterpénoïdes et quelques composés aliphatiques.

Il existe aussi des métabolites de surface. Ceux-ci peuvent être issus du métabolisme primaire comme secondaire. Ces métabolites peuvent être impliqués dans les mécanismes de reconnaissance de la plante et peuvent donner à l'insecte, par leurs proportions à la surface de la plante, des informations très spécifiques et stables. Ainsi par exemple, les sucres alcools et les sucres solubles participent aux mécanismes de reconnaissance et d'acceptation de la plante par bon nombre d'insectes pour pondre (voir Calatayud et al. [2013a] pour plus de détails).

Hormis les composés présents à la surface de la plante, ceux présents dans les tissus de celle-ci jouent un rôle prépondérant dans l'acceptation des chenilles pour la colonisation de la plante et pour leur développement. Les plantes supérieures se caractérisent par l'existence d'un métabolisme primaire et secondaire. Le premier assure les processus physiologiques de base communs à toutes les plantes supérieures et les composés issus de ce métabolisme sont souvent des nutriments aux insectes. Le deuxième n'est pas commun à toutes les plantes et les composés de ce métabolisme ne sont pas considérés comme des nutriments aux insectes pouvant même être toxiques (voir Calatayud et al. [2013a] pour plus de détails).

B. Les phéromones

Les phéromones peuvent être volatiles (perçues par les récepteurs olfactifs), ou agir par contact (composés cuticulaires des insectes par exemple, perçus par les récepteurs gustatifs chez les insectes sociaux [e.g., fourmis, abeilles]). Chez les lépidoptères, elles sont le plus souvent volatiles, pouvant être transportées et détectées à plusieurs kilomètres.

a. Différents types de phéromones

Le terme de phéromone est issu des mots grecs « *pherein* », transporter et « *hormaien* », exciter. Une phéromone est donc une substance produite et émise par un individu et dont la perception par d'autres individus de la même espèce induit chez ces derniers une modification physiologique et/ou comportementale (Karlson and Luscher, 1959). En 1891, l'entomologiste français Jean-Henri Fabre supposait l'implication de composés odorants intervenant lors de la reproduction chez le grand paon de nuit, *Saturnia pyri* (Lepidoptera : Saturniidae). Mais l'identification du premier composé phéromonal, le bombykol, chez le papillon du ver à soie *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae) ne survient qu'en 1959 grâce aux travaux de Butenandt sur des extraits de 500 000 abdomens de femelles (Butenandt et al., 1959). C'est par ailleurs cette même année qu'a été donnée la première définition de la phéromone par Karlson and Luscher (Karlson and Luscher, 1959). Depuis, on dénombre plus de 1 600 composés phéromonaux identifiés chez les lépidoptères, en particulier parmi les ravageurs de cultures (www.pherobase.com). Cette connaissance des composés phéromonaux a permis le développement de nouvelles méthodes de lutte contre les ravageurs de culture telles que le piégeage et la confusion sexuelle.

Les phéromones sont classifiées en fonction de leur rôle. On distingue, par exemple les phéromones d'agrégation, les phéromones d'alarme et les phéromones sexuelles. Les phéromones sexuelles sont les plus étudiées et les plus frappantes du point de vue du comportement qu'elles engendrent.

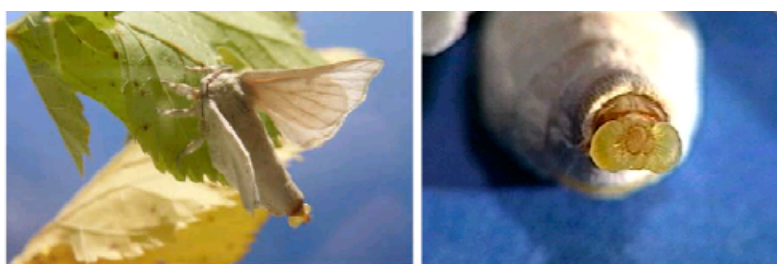
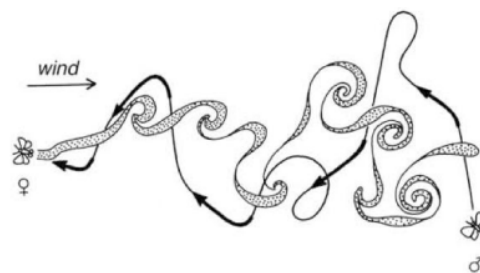


Figure 2. Femelle de *Bombyx mori* en d'appel (à gauche) et vue de sa glande phéromonale extrudée (à droite) (photos de Kaissling et Kanzaki).

Elles sont le plus souvent constituées d'un mélange de composés odorants. Pour une espèce donnée, ce mélange est extrêmement spécifique. Cette spécificité résulte de la nature des composés chimiques de la phéromone ainsi que de leur proportion dans ce mélange, mais aussi du rythme de libération du bouquet phéromonal. La production de phéromone peut résulter de deux mécanismes, soit une capture de certains composés de plantes par l'insecte, soit une synthèse *de novo* (Reddy and Guerrero, 2004). Chez de nombreux papillons de nuit, comme les noctuelles, les phéromones sexuelles émises par les femelles sont biosynthétisées *de novo* au sein d'une glande située à entre le 8^{ème} et le 9^{ème} segment abdominal par des cellules épithéliales. Cette glande est extrudée par pression hémolymphatique lorsque la femelle est en appel (Dunkelblum et al., 1987 ; Iglesias et al., 1999) (Fig. 2). Il est à noter que cette glande est en étroite association avec l'ovipositeur, organe de ponte des femelles.

Figure 3. Schéma d'un vol en zigzag d'un mâle remontant un panache de phéromone. Le mâle traverse plusieurs fois le panache, ce qui lui permet d'extrapoler constamment la position de la source de phéromone. (D'après Kaissling [2004]).



L'émission de la phéromone sexuelle par la femelle a lieu lors d'une période critique du nyctémère qui est spécifique de l'espèce. Cette période d'émission correspond rigoureusement à la période de réponse comportementale maximale du mâle de la même espèce (Dunkelblum et al., 1987 ; Rosén, 2002 ; Rafaeli, 2005) ce qui favorise les chances d'accouplement. Lors de l'émission de la phéromone, celle-ci se propage dans le milieu aérien sous la forme d'un panache phéromonal. Les composés phéromonaux une fois perçus par le mâle élicitent chez ce dernier une réponse comportementale spécifique d'attraction. Cette réponse est caractérisée par un vol en zigzag à travers ce panache jusqu'à la source d'émission, ceci permet au mâle de définir constamment sa position relative par rapport au message odorant (Fig. 3). Le temps de réaction des mâles est extrêmement rapide, de l'ordre d'une demi-seconde (Baker and Vogt, 1988). Cette rapidité d'intégration et de traitement des informations olfactives démontre que le système de réception olfactive est extrêmement dynamique, spécifique et sensible (Kaissling, 2004).

b. Biosynthèse des phéromones sexuelles

Les composés phéromonaux rencontrés chez les lépidoptères nocturnes sont généralement constitués d'une chaîne hydrocarbonée simple (12 à 18 carbones), portant une ou plusieurs insaturations et un groupe fonctionnel oxygéné (alcool, aldéhyde, ester ou époxyde) (Tamaki, 1985). La biosynthèse des composants de la phéromone débute par la production d'acides gras. Ces acides gras sont ensuite modifiés par plusieurs réactions enzymatiques jusqu'aux composés finaux (Muñoz et al., 2008). Ces diverses modifications de chaîne carbonée font intervenir plusieurs groupes d'enzymes en fonction des étapes de la biosynthèse.

i. Synthèse des acides gras

Les principales enzymes de cette étape sont les acetyl-CoA carboxylases et les acides gras synthétases. Elles permettent la production de l'acide palmitique (C16) et de l'acide stéarique (C18) (Bjostad and Roelofs, 1984 ; Jurenka et al., 1991 ; 1994 ; Tang et al., 1989). Ces deux acides gras sont ensuite modifiés par des désaturases, des enzymes de raccourcissement de chaîne et des enzymes de fonctionnalisation.

ii. Désaturases

Les désaturases sont les enzymes permettant la formation des doubles liaisons sur la chaîne carbonée des acides gras précurseurs. Une grande variété de ces enzymes a été caractérisée comme étant impliquée dans la biosynthèse de la phéromone sexuelle de noctuelles femelles. Ces désaturases sont de plusieurs types selon la position de la double liaison qu'elles forment : $\Delta 5$ (Foster and Roelofs, 1996), $\Delta 9$ (Martinez et al., 1990), $\Delta 10$ (Foster and Roelofs, 1988), $\Delta 11$ (Bjostad and Roelofs, 1983), and $\Delta 14$ (Zhao et al., 1990) (Fig 4).

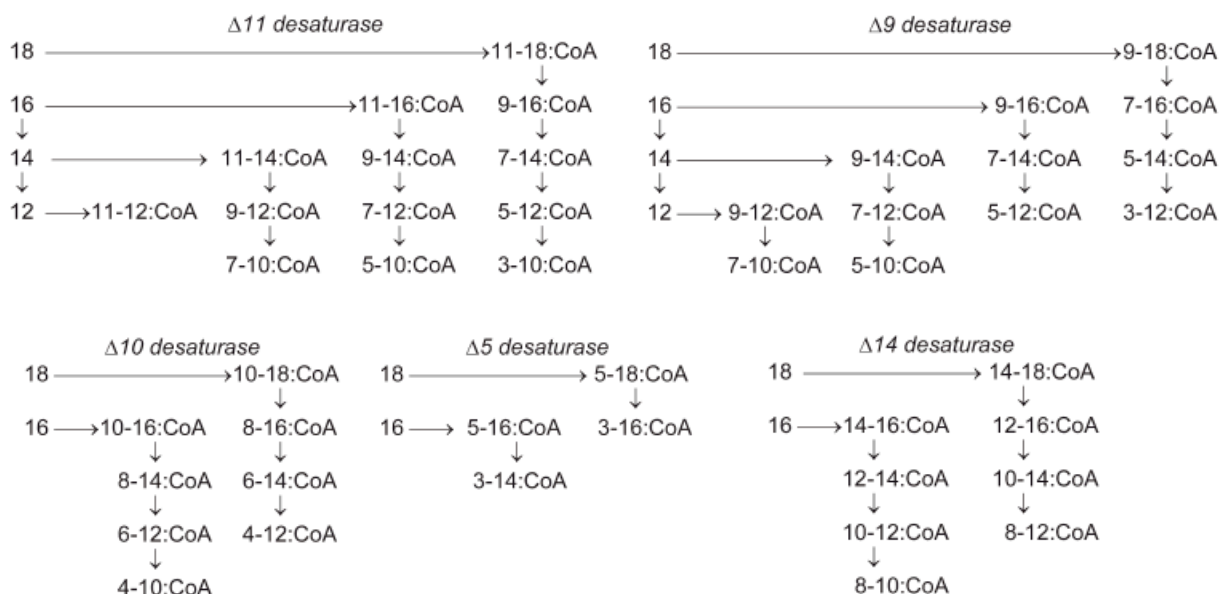


Figure 4. Illustration de la grande variété de précurseurs insaturés pouvant être produits par l'action combinée des désaturases et des enzymes de raccourcissement de chaîne. Ces précurseurs peuvent ensuite être modifiés de manière à former les composés phéromonaux insaturés (les flèches pointant vers le bas indiquent des raccourcissements de chaîne de 2 carbones). Chacune des molécules présentées ici, une fois le groupement acyl-CoA modifié, peut former un acétate d'ester, un aldéhyde ou un alcool, déjà identifiés comme composés phéromonaux (d'après Jurenka [2004]).

iii. Synthèse du groupement fonctionnel

Quand la chaîne carbonée du précurseur de phéromone a la taille et les doubles liaisons adéquates, l'extrémité carbonyle est modifiée pour former le groupement fonctionnel (Fig. 4). Les composés phéromonaux rencontrés chez les lépidoptères et en particulier les noctuelles sont majoritairement des acétates d'esters, des alcools et des aldéhydes. Pour produire ces composés, les enzymes impliquées seraient des acide gras réductases et des aldéhyde réductases permettant le passage d'un précurseur acyl gras à un aldéhyde puis à un alcool (Morse and Meighen, 1987). Cependant les aldéhydes peuvent également être produits par oxydation des alcools. Enfin, les acétates seraient produits par acétylation d'alcools (intervention d'acétyl transférase).

iv. *Production d'un mélange phéromonal spécifique*

Comme cité ci-dessus, la phéromone sexuelle est spécifique d'une espèce donnée, ceci contribuant à l'isolement reproducteur.

Cette spécificité résulte non seulement de la nature des composés chimiques de la phéromone, mais aussi de leur proportion dans ce mélange. L'établissement de ces ratios précis entre composés résulte des propriétés intrinsèques des enzymes impliquées dans leur biosynthèse (Jurenka, 2003; Jurenka and Roelofs, 1993). Ainsi, en fonction de la spécificité de substrat d'une désaturase, les produits seront différents comme illustré en figure 5.

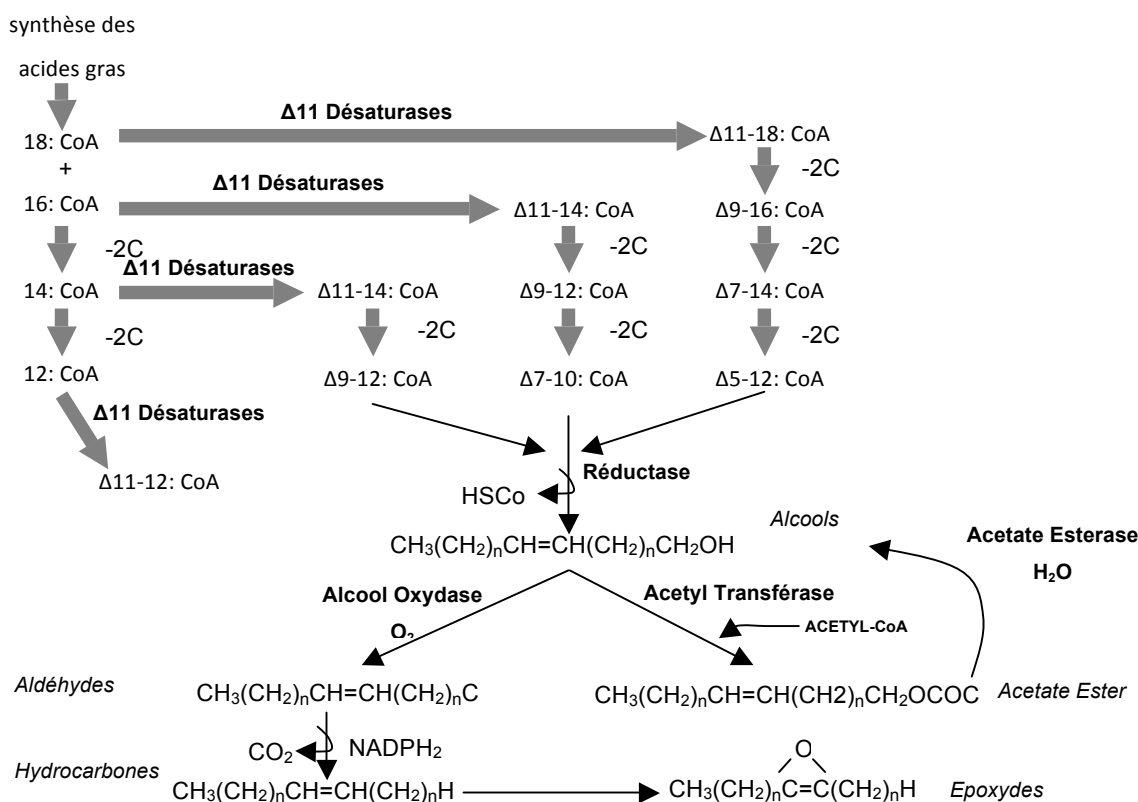


Figure 5. Voie de biosynthèse des phéromones des lépidoptères. La première grande étape serait la production d'alcools insaturés qui permettront de former, grâce aux enzymes adéquates, les esters et les aldéhydes (d'après Mas et al. [2000] et Roelofs [1995]).

2. Organisation générale du système chimiosensoriel

A. Systèmes chimiosensoriels périphérique et central

La chimioréception résulte d'une détection périphérique des signaux et de leur intégration dans le système nerveux central. Les structures sensorielles périphériques assurant l'olfaction et la gustation chez les lépidoptères sont généralement situées sur les antennes, les pattes, les pièces buccales (plus ou moins atrophiées selon les espèces) et l'organe de ponte chez les adultes alors qu'ils sont présents sur les antennes et les pièces buccales chez les larves (chenilles). L'unité sensorielle est la sensille. Celle-ci a pour fonction de détecter la présence de composés chimiques en suspension dans l'air ou à la surface (ou à l'intérieur) d'un substrat (voir Calatayud et al. [2013b] pour plus de détails). Pour ce faire, les molécules doivent pénétrer à l'intérieur de la sensille et accéder aux membranes nerveuses. Les sensilles se distinguent des mécanorécepteurs par la présence de pores au travers de leur paroi. Les sensilles olfactives possèdent de nombreux pores disséminés sur leur surface alors que les gustatives ne possèdent qu'un pore terminal ou une couronne de pores à leur extrémité (Fig. 6).

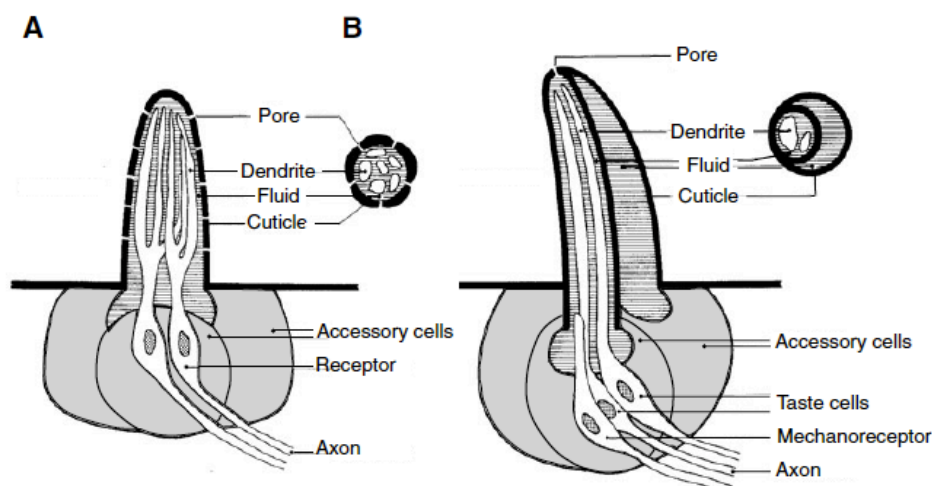


Figure 6. Vues schématisques (sections longitudinales et transversales) d'une sensille olfactive (A) et gustative (B) (d'après Schoonhoven et al. [2005]).

Une sensille gustative contient généralement 4 à 5 neurones chimiorécepteurs et 1 neurone mécanorécepteur. Une sensille olfactive peut, quant à elle, comprendre jusqu'à 130 cellules nerveuses chez les fourmis mais chez les lépidoptères hétérocères elle contient le plus souvent 1 à 4 neurones chimiorécepteurs (voir Calatayud et al. [2013b] pour plus de détails). Dans les deux cas, les dendrites des neurones chimiorécepteurs s'insèrent dans le corps de la sensille jusqu'à son extrémité. Des protéines réceptrices associées à la membrane des dendrites réagissent aux molécules et induisent une impulsion nerveuse. Ces impulsions sont ensuite transmises le long de l'axone du neurone chimiosensoriel vers le premier relai synaptique où va avoir lieu l'intégration du signal. Les neurones de récepteurs olfactifs (NRO) convergent vers les lobes antennaires au niveau de structures morpho-fonctionnelles d'intégration des informations olfactives appelées les glomérules. Chaque glomérule ne reçoit que les informations olfactives en provenance d'un même type de NRO répondant à un ou des composés particuliers. Par conséquent, une carte d'activation périphérique correspond une carte d'activation des glomérules du lobe antennaire. Pour les sensilles gustatives, les impulsions nerveuses convergent vers de nombreux centres nerveux différents en fonction de leur position : les porte-ganglions sous-œsophagiens lorsqu'elles sont sur les antennes ou le proboscis, les ganglions thoraciques et abdominaux lorsqu'elles sont sur les pattes et l'ovipositeur (Mitchell et al., 1999 ; Stocker, 1994).

B. Les principaux types de sensilles chimioréceptrices

Chez les lépidoptères, on rencontre trois principaux types de sensilles chimioréceptrices : les trichoïdes, les basiconiques et les coeloconiques (voir Calatayud et al. [2013b] pour plus de détails). Les sensilles trichoïdes (Fig. 7A) (Zacharuk, 1985), se trouvent le plus souvent sur les antennes, pattes et organe de ponte. Elles peuvent posséder des pores disséminés à la surface, elles sont dans ce cas olfactives (par exemple les sensilles sensibles aux phéromones sexuelles), ou ne posséder qu'un pore terminal, elles sont alors gustatives. Si elles possèdent en plus une membrane articulaire basale, elles sont également mécanoréceptrices. Quand elles sont gustatives, on les dénomme le plus souvent chaétiques (*sensilla chaetica*), car elles présentent dans ce cas une extrémité plus arrondie due à leur unique pore terminal. Les sensilles coeloconiques présentent une petite sensille multiporeuse au centre d'une invagination circulaire de la cuticule (Zacharuk,

1985) (Fig. 7B). Elles sont impliquées dans l'olfaction. On les trouve le plus souvent sur les antennes. Quant aux sensilles basiconiques, elle sont en forme de cône, plus courtes et plutôt impliquées dans l'olfaction (Zacharuk, 1985). On les rencontre le plus souvent sur les antennes (Fig. 7C). Cependant, elles peuvent être également présentes sur les pièces buccales et sur d'autres parties du corps de l'insecte comme l'ovipositeur.

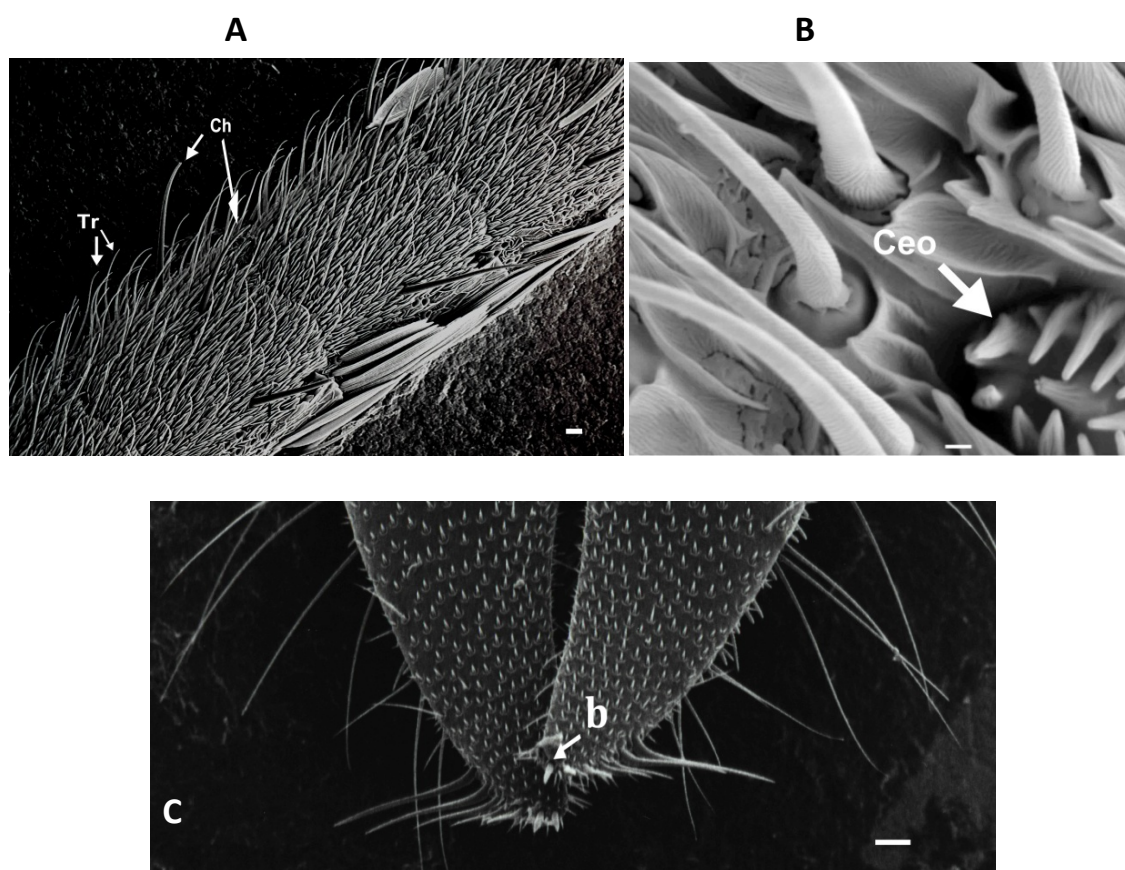


Figure 7. Vues en microscopie électronique à balayage : de la face ventrale d'une antenne de femelle de noctuelle (*Sesamia nonagrioides* [Lepidoptera : Noctuidae]) (segments intermédiaires de l'antenne montrant les sensilles trichoïdes [Tr] et chaétiques [Ch]) (A) ; de sensilles ceoloconiques (Ceo) sur l'antenne de femelle de *B. fusca* (B) ; de l'extrémité de l'ovipositeur (face dorsale) de *S. nonagrioides* montrant des sensilles basiconiques multiporeuses (b) (B. Frérot, Communication Personnelle) (C) ; (photos B. Frérot en A et C, G. Mascarell en B) (barre d'échelle = 10 μm pour A et C, 1 μm pour B) (source : Calatayud et al. [2013b]).

III. Mécanismes moléculaires de la chimioréception

1. Mode de fonctionnement des sensilles olfactives

A. Mécanismes généraux

Pour être perçues par les neurones, les molécules volatiles qui sont généralement lipophiles (insolubles dans l'eau) doivent pénétrer dans la sensille pour accéder à la membrane des neurones. Pour cela les molécules pénètrent dans la sensille par de minuscules pores disséminés le long de celle-ci puis circulent dans la lymphe sensillaire (liquide aqueux) par l'intermédiaire de protéines spécifiques solubles dans l'eau et présentes en grande quantité dans la lymphe de la sensille : les protéines liant les odorants (Odorant-Binding Proteins, OBP et Chemosensory Proteins, CSP), analogues fonctionnellement à des lipocalines (protéines qui transportent des ligands hydrophobes chez les vertébrés et les invertébrés) (Fig. 8). Les molécules odorantes arrivées près des neurones olfactifs sont libérées et détectées par des récepteurs localisés dans la membrane des dendrites : des récepteurs ionotropiques (IR) et/ou des récepteurs olfactifs (OR) associés à un co-récepteur (ORco).

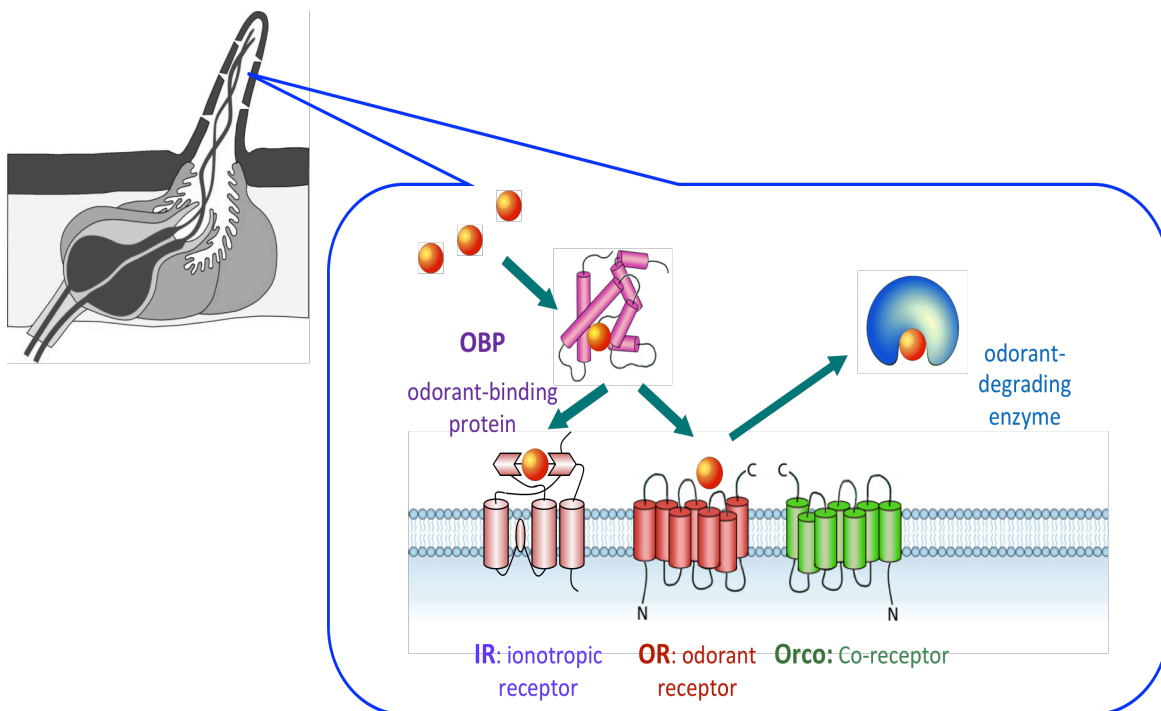


Figure 8. Les différentes protéines de la lymphe sensillaire et de la membrane des neurones.

Il faut savoir qu'une des caractéristiques des chimiorécepteurs est de traduire un signal chimique véhiculé par les protéines sensillaires en signal électrique par dépolarisation membranaire des dendrites (voir Calatayud et al. [2013b] pour plus de détails). Pour cela, ils opèrent de la façon suivante : les récepteurs olfactifs sont des protéines à sept domaines transmembranaires qui formeraient des dimères entre un récepteur olfactif responsable de la spécificité de liaison avec un ligand et un récepteur olfactif partenaire, qui engendrerait avec le précédent un canal ionique et/ou permettrait une interaction avec des protéines G. Ces événements initiaux de la transduction sont amplifiés par différentes cascades de transduction provoquant *in fine* la génération de potentiels d'action transmis jusqu'aux lobes antennaires. La réponse est de type phasique/tonique et perdure pendant une courte période après la suppression du stimulus.

La lymphe sensillaire est très riche en activité enzymatique. Les enzymes présentes pourraient servir non seulement à protéger les neurones des xénobiotiques qui pourraient entrer par les pores, mais elles pourraient également intervenir dans la terminaison du signal par dégradation des molécules odorantes. Ainsi, ces enzymes sont appelées odorant-degrading enzymes (ODE) (Fig. 8).

La spécificité des neurones olfactifs varie en fonction des molécules qu'ils expriment. Les récepteurs aux phéromones sont, par exemple, hautement spécifiques ne répondant qu'à un seul voire maximum à deux composés. Par contre d'autres récepteurs sont moins spécifiques. C'est par exemple le cas de ceux répondant aux odeurs vertes de plantes (qui correspondent à une variété de composés chimiquement proches).

La sensibilité de l'insecte aux odeurs va dépendre de l'arrangement et du nombre des sensilles olfactives. Ainsi, une antenne plus longue avec plus de sensilles olfactives disséminées tout le long va augmenter la probabilité de capture des volatiles et permet d'explorer un volume d'air plus grand, et donc de détecter des composés à faible concentration dans l'environnement. C'est pourquoi chez beaucoup d'espèces de lépidoptères, la femelle attirant le mâle en émettant des phéromones, les mâles possèdent souvent des antennes plus longues et pectinées pour permettre une plus grande richesse en sensilles sensibles aux phéromones. Il est généralement admis que la concentration en phéromones est beaucoup plus faible que celle des odeurs de plantes, ce qui permet d'expliquer pourquoi les femelles possèdent en général un moins grand nombre de sensilles olfactives que les mâles.

B. Les protéines de liaison

a. Les « odorant-binding proteins » ou OBP

La lymphe sensillaire contient une grande variété de protéines qui possèdent différentes fonctions. Ces protéines participent à la prise en charge des composés odorants, à leur fixation sur les récepteurs ou encore à l'inactivation de ces derniers. Une des principales familles de protéines de la lymphe sensillaire est la famille des OBP. Leur découverte remonte au début des années 1980 avec la mise en évidence chez le lépidoptère *Antheraea polyphemus* d'une protéine capable de lier la phéromone de cette espèce (Vogt and Riddiford, 1981). Les vertébrés possèdent des OBP qui ont également un rôle de transporteur d'odorants mais elles sont différentes de celles des insectes du point de vue de leur structure et de leur taille.

Les OBP des insectes sont synthétisées par les cellules accessoires des neurones olfactifs et sécrétées dans la lymphe sensillaire. Elles sont de petite taille, d'environ 150 acides aminés, et très abondantes dans la lymphe. Elles sont solubles et sont caractérisées par six cystéines reliées par trois ponts disulfures (Leal et al., 1999; Scaloni et al., 1999).

Ceci leur confère une structure tridimensionnelle spécifique avec six hélices alpha et un site hydrophobe permettant d'y accueillir un ligand non soluble (Sandler et al., 2000).

Les nombreuses études sur cette famille de protéines ont permis l'identification d'un grand nombre d'OBP aussi bien chez les lépidoptères que chez les autres ordres d'insectes (diptères, coléoptères, hyménoptères...)(Zhou and Gerald, 2010). L'identification des OBP a par ailleurs été accélérée grâce aux séquençages de génomes d'insectes. Il a ainsi été possible d'identifier le répertoire complet des OBP de plusieurs espèces révélant ainsi la diversité de ces protéines. C'est le cas pour la drosophile qui possède 51 OBP, l'anophèle (57 OBP) et *B. mori* avec 44 OBP (Gong et al., 2009).

L'expression des OBP de lépidoptères est généralement restreinte aux organes chimiosensoriels. Elles sont relativement bien conservées au sein de l'ordre des lépidoptères mais très peu avec les autres ordres (Pelosi et al., 2006). Les OBP peuvent se diviser en plusieurs sous-familles : l'une de ces sous-familles regroupe les protéines qui lieraient spécifiquement les composés phéromonaux : les Pheromone-Binding Proteins (PBP) que l'on trouve en abondance dans les antennes des individus mâles (Vogt and Riddiford, 1981).

Une autre sous-famille d'OBP est celle des protéines potentiellement impliquées dans la liaison des composés volatils de plantes (Vogt et al., 1991a and b): les General Odorant-Binding Proteins (GOBP). Cependant, cette classification reste artificielle et très peu d'OBP ont un ligand identifié à ce jour. Chez certaines espèces, il a été montré, grâce à des techniques d'immunocytochimie, que les PBP sont exprimées dans les sensilles qui répondent à la phéromone et les GOBP dans les sensilles basiconiques qui répondent aux odeurs de plantes. En utilisant un antisérum polyclonal contre une PBP d'*Antheraea polyphemus*, il a été possible de prouver que cette protéine était présente principalement dans les sensilles trichoïdes répondant à la phéromone chez les mâles (Steinbrecht et al., 1992). Grâce à un autre antisérum contre une GOBP de la même espèce, il a été possible de montrer que cette protéine était majoritairement située dans les sensilles basiconiques qui elles répondent à une plus grande variété d'odeurs et surtout les odeurs de plantes (Laue et al., 1994; Steinbrecht et al., 1995). Néanmoins la distinction de ces différentes sous-familles est la plupart du temps issue de l'analyse d'homologie de séquences. Cependant, il est aujourd'hui démontré que les OBP lient les odorants, et ceci d'une façon plus ou moins spécifique selon les OBP considérées ou selon les études menées.

Toutefois, s'il est admis que les OBP lient les odorants, leur rôle exact dans le mécanisme complexe de la réception odorante, de sa spécificité et de sa dynamique, est encore incompris. Ainsi des travaux suggèrent leur implication dans la « présélection » des molécules odorantes par liaison spécifique avec certaines odeurs (Leal et al., 2005).

La description de plusieurs PBP au sein d'une même espèce renforce cette hypothèse : les phéromones étant des mélanges complexes de plusieurs composés, chaque PBP pourrait lier préférentiellement l'un de ces composés comme cela a été démontré pour les trois PBP d'*A. polyphemus* en situation de compétition (Maida et al., 2003). Autre exemple, la mutation de la PBP LUSH de *D. melanogaster* entraîne une perte totale de la sensibilité antennaire à une phéromone, le 11-cis vacényl acétate (cVA) (Xu et al., 2005). De même, chez le moustique *Culex quinquefasciatus*, l'inhibition par ARN interférence d'une OBP décrite comme liant un composé phéromonal entraîne une forte diminution de la réponse antennaire à ce composé (Pelletier et al., 2010).

Les travaux de Große-Wilde et al. (2006) sur *B. mori* ont par ailleurs permis de démontrer par des techniques d'électrophysiologie que le récepteur BmOR-1, exprimé seul en système cellulaire,

répond à la fois au bombykol et au bombikal. Mais si l'on ajoute la PBP1, ce récepteur ne répond plus qu'au bombykol. Ainsi la PBP assure la spécificité du récepteur.

Parmi les autres rôles des OBP, ont été proposés la protection des odorants contre leur dégradation enzymatique dans la lymphe avant interaction avec le récepteur (Kaissling, 2009) ou encore l'activation du récepteur olfactif membranaire (OR). Selon cette dernière hypothèse, l'OBP changerait de conformation en présence de son ligand, et cette « forme activée » serait reconnue par l'OR (Laughlin et al., 2008).

b. Les « chemosensory proteins » ou CSP

D'autres protéines de transport, les ChemoSensory Proteins (CSP), ont été identifiées chez tous les grands groupes d'arthropodes : les hexapodes, les crustacés, les myriapodes et les chélicérates (Angeli et al., 1999 ; Pelosi et al., 2006). Elles possèdent des caractéristiques communes avec les OBP du point de vue de la solubilité, de l'abondance dans la lymphe sensillaire et de la structure tridimensionnelle (Fig. 9). Cependant, ces protéines, contrairement aux OBP, sont également exprimées dans de nombreux autres tissus notamment les pattes (Pelosi et al., 2006b; Picimbon et al., 2000), le cerveau, l'abdomen... ce qui laisse supposer un rôle plus général. Elles diffèrent par ailleurs des OBP par leur taille, elles sont plus petites que les OBP avec 100 à 120 acides aminés, par leur nombre de cystéines et de ponts disulfures (respectivement quatre et deux) (Leal et al., 1999; Pelosi et al., 2006b; Scaloni et al., 1999). Elles ne possèdent pas d'homologie avec les OBP mais sont plus conservées que ces dernières. En effet, elles montrent communément entre 40 et 50% d'identité de séquence entre espèces d'ordre différent. Le répertoire des CSP pour une espèce donnée est moins important que celui des OBP. Divers travaux ont permis d'identifier 4 CSP chez la drosophile (Pelosi et al., 2006a), 7 CSP ont été identifiées par le consortium TAGSC (The *Anopheles* Genome Sequencing Consortium) chez l'anophèle et 20 chez *B. mori* (Gong et al., 2007). Elles seraient impliquées dans le transport de différents types de molécules hydrophobes, entre autre les odorants, de molécules issues de la cuticule et détectées par contact grâce aux antennes et aux pattes. Celles exprimées dans les antennes pourraient également lier les composés phéromonaux (Jacquin-Joly et al., 2001).

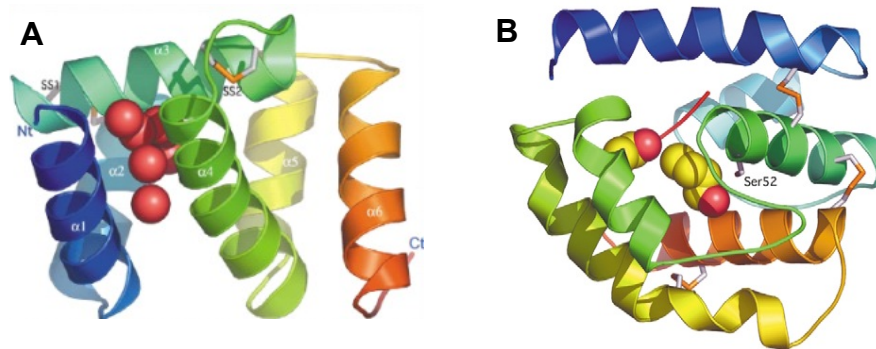


Figure 9. Structure spatiale d'une CSP (A) et d'une OBP (B) d'après Tegoni et al. (2004).

C. Les récepteurs olfactifs et ionotropiques

a. Les récepteurs olfactifs de type OR

Les récepteurs olfactifs (OR de l'anglais Odorant Receptor) ont été découverts pour la première fois chez le rat en 1991 (Buck and Axel, 1991 ; Prix Nobel de médecine 2004). Chez les vertébrés, ce sont des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés à une protéine G. Ils possèdent une partie N-terminale extracellulaire et une partie C-terminale intracellulaire. De plus, les domaines transmembranaires sont reliés entre eux par des boucles intra et extracellulaires. Les boucles extracellulaires participent au site de reconnaissance du ligand tandis que les boucles intracellulaires interagissent avec la protéine G.

Les OR ont été découverts chez les insectes huit ans après ceux des mammifères par trois équipes simultanément (Clyne et al., 1999 ; Gao and Chess, 1999 ; Vosshall et al., 1999), grâce à l'exploitation du séquençage du génome de *D. melanogaster* la même année. Depuis, les séquençages des génomes d'autres insectes modèles ont permis la description des OR chez ces derniers : C'est le cas pour : *Anopheles gambiae* (Hill et al., 2002), *Apis mellifera* (Robertson and Wanner, 2006a), *B. mori* (Tanaka et al., 2009), *Danaus plexippus* (Zhan et al., 2011), ...

Le délai relativement important entre ces deux découvertes s'explique par la grande divergence des OR d'insectes par rapport aux OR des vertébrés. En effet, une fois les OR de vertébrés mis en

évidence, les tentatives d'identification des OR d'insectes par les techniques de clonage par homologie ont échoué du fait de cette divergence. De plus, les OR des insectes sont aussi très divergents d'une espèce à l'autre, mais également au sein d'une même espèce (20% d'identité de séquence seulement) (Jacquin-Joly and Merlin, 2004). C'est pourquoi, dans un premier temps, seuls les OR des espèces pour lesquelles le génome a été séquencé ont pu être identifiés. Ainsi le génome de la drosophile, premier génome d'insecte à être séquencé, a permis d'identifier *in silico* 62 gènes codant des OR (Robertson et al., 2003 ; Clyne et al., 1999 ; Gao and Chess, 1999 ; Vosshall et al., 1999).

En partant de l'hypothèse que les OR d'insectes devaient posséder une structure membranaire commune aux OR de vertébrés, les auteurs ont utilisé un algorithme de recherche de protéines à sept domaines transmembranaires (succession de domaines hydrophiles et hydrophobes), ceci combiné à l'hypothèse que les gènes codant pour des OR étaient spécifiquement exprimés dans les organes chimiosensoriels. Le développement du séquençage de génomes complexes et l'essor des techniques de bioinformatique ont permis d'identifier les OR chez d'autres espèces. Une alternative au séquençage de génome, relativement onéreux et long, réside dans les approches transcriptomiques. Ainsi, Robertson et al. (1999) a établi une banque d'étiquettes de gènes exprimés (EST pour *expressed sequence tag*) dans les antennes du papillon *Manduca sexta*, dans le but d'identifier des transcrits codant pour des OR. Cependant, sur les 506 EST obtenues, les auteurs n'ont pu identifier que 7 OBP, et aucun récepteur olfactif. Plus tard, Jordan et al. (2008) ont séquencé 5700 EST chez la tordeuse *Epiphyas postvittana*, ce qui a permis de découvrir 14 OBP/CSP et 3 OR. Depuis, des approches de plus grande envergure tirant parti des « nouvelles générations de séquençage à haut débit » (NGS), ont permis l'identification d'un grand nombre d'OR chez des espèces sans génome séquencé : notamment la noctuelle *Spodoptera littoralis* (Jacquin-Joly et al., 2012; Legeai et al., 2011; Poivet et al., 2013), *M. sexta* (Grosse-Wilde et al., 2011a), ou *Cydia pomonella* (Bengtsson et al., 2012).

Ces données ont d'ailleurs permis de confirmer le peu d'homologie généralement observée entre les OR d'insectes, mais ont aussi contribué à révéler des familles très conservées au sein d'un même ordre ou d'une famille d'insectes. Ainsi, Brigaud et al. (2009) ont décrit un OR spécifique des noctuelles, OR18, dont les orthologues présentent une grande homologie de séquence. Un tel type d'OR apporte de précieux renseignements sur l'évolution des sens chimiques des insectes et offre une cible privilégiée pour le développement de nouveaux insecticides, spécifiques de cette famille de lépidoptères qui regroupe essentiellement des ravageurs des cultures.

Un autre OR se démarque particulièrement des autres. On retrouve en effet parmi toutes les espèces d'insectes étudiées à ce jour, un OR très conservé (Krieger et al., 2003 ; Malpel et al., 2008). Chez la drosophile, il fut nommé OR83b (Larsson et al., 2004), mais on le nomme aujourd'hui plus généralement ORco (Vosshall and Hansson, 2011). Cette protéine est exprimée dans la quasi-totalité des neurones olfactifs et ne confère de sensibilité à aucun odorant lorsqu'il est exprimé seul (Elmore *et al.*, 2003). Ce récepteur forme en réalité des hétérodimères avec les OR classiques et leur confère leur activité, formant ainsi la véritable unité moléculaire fonctionnelle de reconnaissance olfactive (Benton et al., 2006 ; Larsson et al., 2004). C'est donc l'hétérodimère ORx/ORco qui permet de discriminer les différentes molécules odorantes. Ce rôle de corécepteur lui a valu son nom actuel : ORco (Vosshall and Hansson, 2011). Chez *B. mori* par exemple, la réponse à la phéromone testée en système hétérologue par expression des récepteurs ORx, est grandement renforcée lorsque ORco est présent (Nakagawa et al., 2005). Par ailleurs, ORco est tellement conservé qu'il est interchangeable d'une espèce à l'autre comme l'a montré une étude chez *D. melanogaster* (Jones et al., 2005), où les ORco de diverses espèces peuvent se substituer au ORco endogène.

Ainsi, les OR d'insectes diffèrent des OR de vertébrés dans leur fonctionnement. Leur topologie est aussi différente : ces récepteurs, bien que faisant également partie de la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires, présentent une topologie d'insertion membranaire inverse de celle des OR identifiés chez les vertébrés (Fig. 10). En effet, leur partie N-terminale est intracellulaire et leur partie C-terminale extracellulaire (Bargmann, 2006 ; Benton et al., 2006). Ainsi, l'origine évolutive des OR d'insectes est indépendante de celle des mammifères mais on observe cependant des convergences dans le fonctionnement des systèmes olfactifs d'insectes et de mammifères. Comme chez les vertébrés, 1) chaque neurone olfactif d'insecte n'exprime qu'un seul type de récepteurs sur sa membrane ; 2) tous les NRO qui expriment le même OR projettent leurs axones dans le (ou les) même glomérule des lobes antennaires (Vosshall et al., 1999 ; Sakurai et al., 2004). Ainsi, la « logique » olfactive est conservée chez les animaux.

Un grand groupe d'OR particulièrement étudié chez les lépidoptères, en raison de leur utilisation possible en protection des cultures, est celui des OR impliqués dans la reconnaissance des composés phéromonaux. Ces OR sont appelés récepteurs phéromonaux (PR). Ils font en effet l'objet d'études fonctionnelles poussées pour identifier des molécules antagonistes qui

permettraient de mettre au point des « bloquants » olfactifs, alternatifs aux stratégies de confusion sexuelle.

Il est à noter que les séquences sont souvent classées dans la famille des PR sans données fonctionnelles, mais selon différents critères : 1) expression uniquement au stade adulte, 2) expression spécifique des, ou enrichie dans les antennes des mâles, 3) position phylogénétique dans un groupe protéique monophylétique bien distinct de celui des OR classiques (Krieger et al., 2002 ; Bengtsson et al., 2012). Ils présentent une plus forte homologie de séquence que ces derniers (40 à 60% d'homologie, jusqu'à 80 à 90% au sein du même genre). Ainsi, les approches de clonage par homologie sont possibles (Mitsuno et al., 2008 ; Miura et al., 2009). Le nombre de PR identifiés par espèce est faible (2 à 6), mais souvent corrélé au nombre de composés phéromonaux. Ainsi, les antennes mâles de *B. mori* expriment 2 PR, et la phéromone est constituée de 2 composés, le bombykol et le bombykal. Chaque type de PR est exprimé par un seul NRO, situé au sein des sensilles trichoïdes, longues ou courtes selon les espèces. Souvent, les NRO qui répondent aux phéromones sont co-localisés dans la même sensille (Ljungberg et al., 1993 ; Nakagawa et al., 2005). De plus, des expériences d'hybridation *in situ* pluri-marquage montrent que les NRO qui expriment les PR sont co-localisés avec les cellules accessoires qui expriment les PBP (Krieger et al., 2005). D'un point de vue fonctionnel, les PR ont été caractérisés par expression hétérologue *in vitro* chez différentes espèces, dont *B. mori* (Sakurai et al., 2004 ; Nakagawa et al., 2005), *Heliothis virescens* (Grosse-Wilde et al., 2007), *Mythimna separata* (Mitsuno et al., 2008), la pyrale du maïs *Ostrinia nubilalis* (Miura et al., 2009 ; Wanner et al., 2010), *Spodoptera littoralis* (Montagne et al., 2012). Contrairement aux autres OR souvent « généralistes » et qui ont des affinités variables pour les molécules odorantes, les PR sont très spécialisés et très sensibles (Wilson and Mainen, 2006). Ainsi, chacun des 2 PR de *B. mori* lie spécifiquement, soit le bombykol, soit le bombykal (Sakurai et al., 2004 ; Nakagawa et al., 2005). Selon certaines études, la spécificité des PR n'est obtenue qu'en présence de certaines PBP (Große-Wilde et al., 2006 ; 2007), ce qui étaye l'hypothèse d'un rôle de liaison sélective pour ces PBP. En dehors des lépidoptères, très peu de PR ont été caractérisés. Chez *D. melanogaster*, le seul composé phéromonal volatil identifié est le cVA, qui se lie aux récepteurs DmelRO65a et DmelRO67d, situés dans les sensilles trichoïdes (van der Goes van Naters and Carlson, 2007).

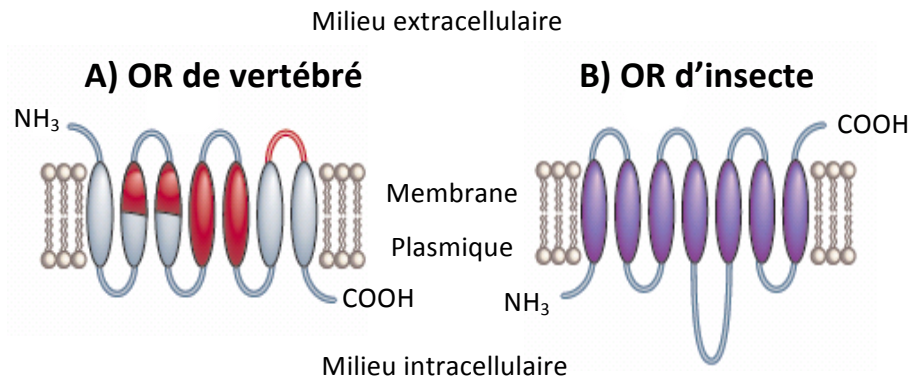


Figure 10. Topologie inverse des récepteurs de vertébrés (A) et d'insectes (B) (d'après Bargmann [2006]).

A ce jour, et bien que de très nombreux OR aient été décrits, très peu d'entre eux ont été caractérisés fonctionnellement, c'est-à-dire que l'association OR et ligand n'a pas encore été démontrée. La découverte du ligand d'un OR est couramment appelée « dé-orphanisation », et la dé-orphanisation des OR, aussi bien chez les insectes que chez les vertébrés, est actuellement un des principaux défis dans le domaine de l'olfaction. Pour y parvenir, différentes méthodes impliquant l'expression hétérologue ont été mises au point. *In vitro*, des OR recombinants d'insectes sont exprimés en système hétérologue : ovocytes de xénopes (Sakurai et al., 2004 ; Pelletier et al., 2010), cellule HEK (*Human Embryonic Kidney*) (Große-Wilde et al., 2006 ; 2007) ou Sf9 (Kiely et al., 2007). Ces OR sont ensuite mis en présence de différents ligands potentiels, et la réponse de la cellule est enregistrée par électrophysiologie (ovocytes) ou imagerie calcique (HEK, Sf9). L'existence d'une souche de drosophile possédant un type de NRO n'exprimant aucun OR, appelée « *empty neuron* », a permis la mise en place d'une technique d'expression hétérologue *in vivo*. Cette souche est ainsi utilisée pour construire un mutant exprimant un OR spécifique dans les NRO « vides ». Ces NRO sont ensuite mis en présence de différents odorants, ce qui permet, grâce à l'enregistrement de leurs réponses électriques, de définir ceux auxquels l'OR répond (Hallem et al., 2004).

Ces études fonctionnelles ont permis de montrer que les OR d'insectes, comme ceux des mammifères, possèdent des affinités variables pour les molécules odorantes. Certains sont très spécifiques, tandis que d'autres présentent un spectre de reconnaissance large (Hallem et al., 2004 ; Tanaka et al., 2009). Ainsi, plusieurs récepteurs peuvent être activés par une même molécule odorante, et un récepteur peut reconnaître plusieurs molécules. Le nombre de combinaisons

possibles permet de reconnaître une grande variété d'odorants en utilisant un nombre relativement restreint d'OR.

b. Les récepteurs ionotropiques (IR)

Très récemment, une nouvelle famille de récepteurs olfactifs a été découverte chez la drosophile : les récepteurs ionotropiques (IR de l'anglais Ionotropic Receptor) (Benton *et al.*, 2009). Ces protéines possèdent trois domaines transmembranaires, un site de liaison au ligand constitué de deux lobes séparés par un pore canal (Fig. 11), et s'apparentent aux récepteurs ionotropiques au glutamate (ou *ionotropic Glutamate Receptors*, iGluR) qui jouent un rôle dans la communication neuronale en formant des canaux au niveau des membranes synaptiques chez les vertébrés et les invertébrés (Littleton and Ganetzky, 2000). Les IR se différencient des iGluR par des substitutions dans les trois acides aminés du site actif responsables de l'interaction avec le glutamate, ce qui suggère une interaction avec des composés différents. Les IR présentent entre 10 et 70% d'identité de séquences en acides aminés. Ils peuvent en réalité être classés en deux familles ; « les IR antennaires », exprimés dans les antennes, assez conservés et à fonction olfactive, et une famille « d'IR divergents » qui seraient impliqués dans la gustation (Croset *et al.*, 2010). La drosophile possède 66 IR, dont 15 IR antennaires (Croset *et al.*, 2010). Chez cette espèce, les IR antennaires sont exprimés au niveau des sensilles coeloconiques, dont les NRO répondent à différents composés dérivés des odeurs de nourriture, l'ammoniaque ou les acides (Benton *et al.*, 2009 ; Ai *et al.*, 2010). Hormis ces deux études, très peu de données fonctionnelles sont disponibles pour les IR, mais sont en accord avec ces données physiologiques. Les IR fonctionnent en complexe hétéromérique (jusqu'à trois IR). Deux IR ; IR25a et IR8a, largement exprimés dans les antennes de drosophile, pourraient servir de co-récepteurs (Croset *et al.*, 2010 ; Abuin *et al.*, 2011). Récemment, et toujours chez la drosophile, une équipe a révélé qu'un IR, IR84a interviendrait dans l'initiation du comportement de cours chez les mâles lors de son activation par des odeurs dérivées de fruit comme l'acide phénylacétique (Grosjean *et al.*, 2011). Ces travaux proposent une séduisante hypothèse reliant recherche alimentaire et recherche de partenaire sexuelle. Depuis leur découverte, de nouveaux IR ont été identifiés chez d'autres insectes comme la mouche *Rhagoletis pomonella* (Schwarz *et al.*, 2009) ou chez les lépidoptères *B. mori* et *S. littoralis* (Croset *et al.*, 2010 ;

Olivier et al., 2011), et chez tous les protostomiens en général (Croset et al., 2010), ceci par des analyses transcriptomiques ou génomiques. Aucun n'a à ce jour été trouvé chez les vertébrés, suggérant que l'apparition de cette famille protéique ait eu lieu après la divergence entre deutérostomiens et protostomiens. Une hypothèse propose les IR comme étant chronologiquement la première classe de récepteurs olfactifs des insectes, dérivant d'un « iGluR ancestral » et ayant par la suite dérivé à leur tour en IR antennaires et « IR divergents » à fonction gustative (Croset et al., 2010).

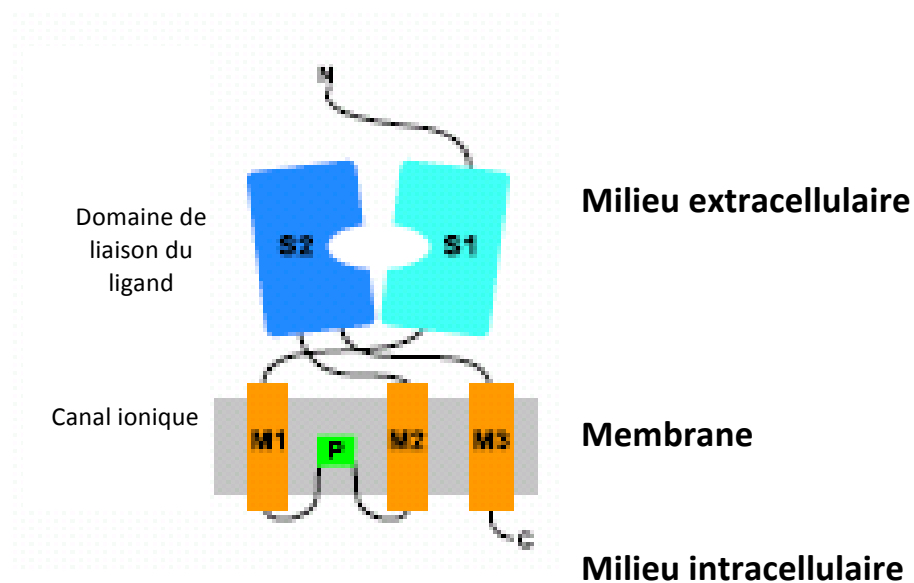


Figure 11. Schéma de l'organisation des iGluR et IR. S1 et S2 : lobes du domaine de liaison au ligand séparés par un canal ionique (d'après Benton et al. [2009])(M1, M2, M3 : domaines transmembranaires, P : pore).

D. Les autres acteurs de la réception olfactive

a. Sensory Neuron Membrane Protein ou SNMP

La première SNMP (SNMP1) a été découverte chez le lépidoptère *A. polyphemus* (Rogers et al., 1997b) comme liant le composé phéromonal de cette espèce. Cette protéine, spécifique des antennes, est exprimée dans les neurones olfactifs et localisée dans la membrane des dendrites (Rogers et al., 2001). Un rôle dans la détection des phéromones était donc supposé. Un deuxième type de SNMP, SNMP2, a ensuite été identifié, non seulement chez *A. polyphemus* mais aussi chez

d'autres papillons, où les deux types ont été retrouvés (Nichols and Vogt, 2008). Cependant, contrairement à SNMP1, SNMP2 est exprimée dans les cellules accessoires des neurones olfactifs (Forstner et al., 2008).

Les SNMP sont des chaînes d'environ 520 acides aminés possédant deux domaines transmembranaires situés à chaque extrémité de la protéine et une grande boucle extracellulaire contenant des ponts disulfures et des groupements N-glycosylés (Rasmussen et al., 1998; Rogers et al., 2001; Rogers et al., 1997a). Les SNMP appartiennent à un groupe plus vaste de gènes, le groupe des CD36, qui inclut des gènes d'autres insectes et également de vertébrés. Il a été montré chez les vertébrés que ces protéines peuvent lier des molécules lipidiques ou des complexes protéines-lipides et assurer leur transfert à travers la membrane (Calvo et al., 1998 ; Gu et al., 1998 ; Krieger, 1999). Les phéromones sexuelles étant pour certaines des dérivés lipidiques, les SNMP pourraient donc intervenir dans la détection des phéromones. Ainsi, en 2007, une étude a montré l'implication d'une SNMP1 dans la réception d'une phéromone, le 11-*cis*-vaccenyl acetate (cVA), chez la drosophile (Benton et al., 2007). Cette SNMP a ainsi été proposée comme permettant le transfert de la phéromone depuis la PBP LUSH vers le récepteur phéromonal. Elles pourraient également inhiber le récepteur après la liaison avec son ligand, permettant ainsi l'arrêt du signal (Jin et al., 2008). Le rôle de SNMP2 reste peu clair dans l'olfaction.

b. Odorant Degrading Enzyme (ODE)

L'une des particularités du système de détection de la phéromone chez les lépidoptères est la grande rapidité de réaction comportementale des mâles en présence de la phéromone. En effet, le comportement typique d'un mâle détectant la phéromone est le vol en zigzag en remontant vers la source. Ce vol en zigzag traduit une succession très rapide de phases pendant lesquelles le mâle perd le signal et de phases pendant lesquelles il le retrouve avec un temps de réaction de l'ordre de la demi-seconde (Baker and Vogt, 1988).

Cela n'est possible que grâce à un système très dynamique à la fois de réponses des NRO à des stimulations brèves et répétées (Kaissling, 1986), et du mécanisme d'inactivation du signal dans le système périphérique (Kaissling, 1998). L'hypothèse émise est l'intervention de protéines présentes

dans la lymphe sensillaire et capables de dégrader la phéromone. Ces enzymes sont appelées les Pheromone-Degrading Enzyme (PDE) (Vogt and Riddiford, 1981).

Le même raisonnement peut aussi être appliqué aux molécules odorantes généralistes, on parlera alors d'ODE (pour Odorant-Degrading Enzyme).

Des PDE présentant des cinétiques de dégradation compatibles avec la dynamique d'inactivation du signal ont en effet été décrites chez *A. polyphemus* (Vogt, 2005) et même une a pu être caractérisée fonctionnellement chez cette espèce (Ishida and Leal, 2005).

L'activité enzymatique des PDE est corrélée à la nature chimique des phéromones des espèces et elle est de ce fait variée : des aldéhyde-oxydases (Rybczynski et al., 1989) seraient impliquées dans la dégradation des composés phéromonaux à fonction aldéhyde, des alcool-oxydases/déshydrogénases (Kasang et al., 1989) pour les composés à fonction alcool, des estérases pour les composés à fonction acétate (Maïbeche-Coisné et al., 2004), des époxydes hydrolases (Prestwich et al., 1989) pour les composés à fonction époxyde. D'autres enzymes, telles des cytochromes P450 (Maïbeche-Coisne et al., 2005), des glutathion-S-transférases (GSTs) (Rogers et al., 1999), des carboxyl/cholinestérases (Ferkovich et al., 1980), pourraient également participer à la terminaison du signal dans les antennes en dégradant les composés phéromonaux ou d'autres odorants.

2. Mode de fonctionnement des sensilles gustatives

A. Mécanismes généraux

Les molécules impliquées dans ce cas peuvent être lipophobes (solubles dans l'eau) ou lipophiles (insolubles dans l'eau). Le pore à l'extrémité de la sensille est généralement recouvert d'un bouchon visqueux de mucopolysaccharides qui exsude plus ou moins, régulant ainsi son ouverture. Les composés présents à l'extérieur sont dissous directement dans ce liquide visqueux pour pénétrer ainsi dans la cavité lymphatique de la sensille. Ils circulent dans la lymphe sensillaire (liquide aqueux) soit seuls s'ils sont lipophobes, soit à l'aide de protéines de transport (Gustatory Transport Proteins, GTP) s'ils sont lipophiles, de manière analogue au transport des composés volatils dans les sensilles olfactives. Les mécanismes de transduction sont bien moins connus que pour les sensilles olfactives. Par analogie aux vertébrés, les ions inorganiques agiraient directement

sur des canaux ioniques de la membrane de la dendrite. Les autres types de composés s'associeraient à des récepteurs protéiques à sept domaines transmembranaires. De manière similaire aux récepteurs olfactifs, l'activation des récepteurs gustatifs induirait différentes cascades de transduction et la génération de potentiels d'action acheminés par les axones des neurones gustatifs vers le système nerveux central, principalement les ganglions sous-oesophagiens, thoraciques ou abdominaux.

Les sensilles gustatives abritent en général 4 neurones gustatifs et un neurone mécanorécepteur. Parmi les 4 neurones gustatifs, on distingue typiquement un neurone répondant aux sucres, un neurone à l'eau et deux neurones aux sels et/ou aux substances amères (pour revue voir (Isono and Morita, 2010)). La spécificité des neurones cependant n'est pas absolue. On peut, par exemple, rencontrer des récepteurs de sucres sensibles également aux sels inorganiques. Au sein d'une même classe de neurones, la spécificité peut varier d'une sensille à l'autre (voir Calatayud et al. [2013b] pour plus de détails).

B. Les récepteurs gustatifs

Les premières études moléculaires sur les récepteurs gustatifs des insectes ont débuté dans les années 2000. Comme pour les OR, l'établissement du génome de la drosophile a permis de découvrir un important répertoire de gènes codant pour des récepteurs gustatifs (GR, de l'anglais gustatory receptor) et de caractériser les neurones impliqués dans la gustation (Clyne et al., 2000). Selon la même stratégie que pour les OR, en utilisant un algorithme ciblant les gènes possédant 7 domaines transmembranaires, associé à une étude d'expression, Clyne et al. ont mis en évidence 40 gènes codant pour des GR potentiels. Ils appartiennent à une nouvelle famille de gènes et partagent des similitudes avec les gènes codant pour des OR de la drosophile, mais sont exprimés dans les tissus impliqués dans la gustation. Depuis, 60 gènes codant des GR potentiels ont été identifiés chez la drosophile (Dunipace et al., 2001), certains ayant un épissage alternatif, menant ainsi à 68 transcrits au total. Ces gènes codent pour des protéines à sept domaines transmembranaires d'une longueur située entre 350 et 550 acides aminés. Les séquences de GR montrent une grande divergence avec des homologies de 15 à 20% entre 2 GR pris au hasard, ce qui est significativement plus faible que pour les OR. Comme pour les OR, on a d'abord pensé que les GR appartenaient à la famille des récepteurs couplés aux protéines G. Cependant, il a été

montré récemment que, comme les OR, les GR ont une topologie inversée dans la membrane (Zhang et al., 2011). Il est à noter que les GR et les OR ont un motif commun dans leur séquence protéique, au niveau du C terminal du septième domaine transmembranaire. Les OR et les GR appartiennent en fait à la même superfamille (Clyne et al., 2000) et ces deux familles de gènes auraient évolué à partir d'un ancêtre commun.

Un ou plusieurs GR sont généralement co-exprimés dans un même neurone, incluant de possibles co-récepteurs obligatoires (Jones et al., 2007; Montell, 2009). La signalisation gustative impliquerait à la fois une voie de transduction du signal par les protéines G (Ishimoto et al., 2005 ; Kain et al., 2010 ; Yao and Carlson, 2010) et une voie indépendante des protéines G (Sato et al., 2011). La majorité des GR de la drosophile ne sont pas caractérisés d'un point de vue fonctionnel, mais quelques récepteurs sont déorphanisés : on trouve ainsi des récepteurs aux sucres (Chyb et al., 2003; Dahanukar et al., 2001; Slone et al., 2007), au CO₂ (Jones et al., 2007; Kwon et al., 2007), aux substances amères (Lee et al., 2009; Moon et al., 2006; Weiss et al., 2011), aux phéromones (Bray and Amrein, 2003 ; Miyamoto and Amrein, 2008) ou aux insecticides naturels produits par les plantes (Lee et al., 2012). En dehors de la drosophile, très peu de données sont disponibles sur les autres insectes. De larges répertoires ont été identifiés chez quelques espèces par analyses de leur génome séquencé, comme pour le puceron du pois (Smadja et al., 2009), l'abeille (Robertson and Wanner, 2006b), le ténébrion (Abdel-Latif, 2007), les moustiques (Hill et al., 2002; Kent et al., 2008) et, chez les lépidoptères, le bombyx du murier *Bombyx mori* (Wanner and Robertson, 2008) et le monarque *Danaus plexippus*. Chez les autres lépidoptères, seuls quelques gènes sont décrits, comme chez *S. littoralis* (Jacquin-Joly et al., 2012) ou *Papilio xuthus* (Ozaki et al., 2011) et moins d'une dizaine sont caractérisés fonctionnellement (Ozaki et al., 2011 ; Sato et al., 2011 ; Zhang et al., 2011).

IV. Evolution des gènes chimiosensoriels

Au regard de l'importance du système chimiosensoriel dans différents traits de vie de l'insecte, comme la nutrition (choix de la plante hôte) et la reproduction (choix du partenaire sexuel, choix des sites d'oviposition), il peut être posé comme hypothèse que des changements au niveau de ce système chimiosensoriel contribuent à la diversification des comportements et des préférences, et donc à l'adaptation des insectes à différents environnements. En particulier, des changements

génétiques peuvent affecter le système chimiosensoriel et se traduire en comportements divergents.

Un des traits évolutifs majeurs du système sensoriel est la diversification rapide du répertoire d'OR et de GR entre les espèces. Il a été estimé que le taux de gain de gènes codant pour des OR ou GR est de 0,370/Ma et celui de pertes de ces gènes de 0,284/Ma, soit des taux plus élevés que si ces événements avaient lieu par hasard (Guo and Kim, 2007).

Les IRs, plus conservés entre les espèces, pourraient représenter une forme ancestrale de chimioréception. Les protéines de liaisons quant à elles montrent également des signes d'évolution, et participeraient également à l'adaptation de l'insecte à son environnement.

1. Evolution des gènes codant pour les OR et GR

Actuellement les données évolutives concernent essentiellement la drosophile, grâce aux 12 espèces dont les génomes ont été séquencés. Il est admis que les grandes familles de gènes évoluent par duplication, divergence et pseudogénisation (Ohno, 1970). L'évolution des gènes au sein des familles de gènes peut intervenir de différentes façons : l'expression de certains gènes dupliqués peut être stoppée, ces gènes peuvent acquérir des nouvelles fonctions, on parle de néofonctionnalisation, et certaines fonctions peuvent être distribuées à des nouvelles copies de gènes, on parle alors de sous-fonctionnalisation (Lynch and Conery, 2000). Ce dernier cas correspondrait à des familles telles que celles des OR et GR qui peuvent alors développer des affinités avec de nouveaux ligands.

Il apparaît que les familles de gènes codant pour les OR et GR montrent une forte dynamique évolutive fonctionnant sous le modèle de naissance et mort (Birth & Death) (Nei and Rooney, 2005). La duplication de gènes est considérée comme la voie privilégiée d'acquisition de nouvelles fonctions par les espèces (Ohno, 1970) et elle est très communément observée chez la drosophile dans la famille des gènes d'OR. Ceci se traduit par la présence de nombreux gènes en tandem sur les chromosomes, issus d'événements de duplication. Par exemple, l'analyse de 11 génomes de drosophiles a montré que parmi les 240 gènes dupliqués, 60% sont répartis en tandems de 2 à 8 gènes (Guo and Kim, 2007). Plus récemment, (Gardiner et al., 2008) a également montré sur les 12 génomes de drosophiles séquencés que la taille des répertoires des gènes de récepteurs variait par duplication et pseudogénisation avec des duplications propres aux espèces. Par exemple, il a été

observé une expansion accélérée du nombre de copies pour plusieurs gènes de GR et d'OR chez *Drosophila ananassae*, *D. willistoni* et *D. grimshawi*.

Ces gènes varient dans leur séquence et sont soumis à une sélection positive montrant l'importance pour cette espèce de la duplication pour acquérir de nouvelles fonctions olfactives. De plus, il apparaît que les duplications spécifiques à une espèce conduisent celle-ci à une spécialisation liée à son environnement écologique spécifique (Guo and Kim, 2007). Par ailleurs, l'analyse de la distribution des acides aminés des GR et OR, grâce aux 12 génomes de drosophiles, a montré des divergences sous sélection positive et sélection purifiante. Il a de plus été observé des différences entre ces 2 types de récepteurs (Gardiner et al., 2008). Cependant il peut aussi intervenir des événements de pseudogénisation, et donc de pertes de gènes. Ces événements sont assez cohérents avec l'idée que les pertes et gains de récepteurs seraient liés fonctionnellement à l'environnement chimique des espèces. Ces événements de pseudogénisation peuvent avoir lieu lors de gains et de pertes d'introns (Guo and Kim, 2007).

Bien que la majorité des travaux ait été effectuée sur la drosophile, quelques données existent également chez d'autres insectes. Les phénomènes d'expansion de la famille des OR ont été observés également chez l'abeille (Foret et al., 2007; Robertson and Wanner, 2006b), chez *Tribolium* (Engsontia et al., 2008), chez *Nasonia vitripennis* (Robertson et al., 2010). Un cas extrême et intéressant est celui du pou (*Pediculus humanus*) parasite de l'homme à ce point spécialisé qu'il ne possède dans son génome plus que 10 OR et 6 GR (Kirkness et al., 2010).

Il existe des exemples qui montrent qu'une modification, même petite, au niveau de quelques gènes chimiosensoriels périphériques, peut entraîner de profondes modifications dans la perception sensorielle et mener à des bouleversements comportementaux, liés à la reconnaissance des phéromones et à la spéciation. Par exemple, (Leary et al., 2012) ont montré que la mutation d'un seul acide aminé dans un récepteur à la phéromone de la pyrale *Ostrinia nubilalis* entraînait un changement de fonction de ce récepteur.

Enfin, une modification dans le taux d'expression de certains OR peut provoquer des changements dans l'activité neuronale et le comportement sous-jacent (pour exemple voir §3 sur *D. sechellia*).

2. Evolution des gènes codant pour les OBP et CSP

Comme pour les OR, les répertoires d'OBP et de CSP présentent beaucoup de signes de duplications et d'expansions. Les premières études ont là aussi été réalisées chez les drosophiles. Ces études ont montré que les gènes codant pour les OBP et CSP suivaient également le modèle « Birth & Death » (Vieira et al., 2007), avec l'existence de gènes dupliqués en tandems et de pseudogènes et que l'évolution de ces familles de gènes était soumise à la sélection purifiante. De plus, Vieira et al. (2007) ont également remarqué, au sein des drosophiles, que le répertoire des OBP avait une évolution plus rapide dans les espèces spécialisées (telles que *D. sechellia* et *D. erecta*) que dans les espèces plus généralistes.

Plus récemment, grâce à l'explosion des données de génomes disponibles, des études chez les insectes en général ont vu le jour, ce qui a permis de montrer que ces évolutions n'étaient pas seulement limitées aux drosophiles mais également à l'ensemble des insectes. Ainsi, Vieira et al. (2011) ont effectué une grande analyse comparative des données génomiques de 20 espèces d'arthropodes en ciblant les familles de gènes de CSP et d'OBP. Ils ont alors observé une évolution très dynamique de ces familles, avec un nombre très élevé de pertes et de gains de gènes, de pseudogènes. Ces observations renforcent donc l'hypothèse du modèle Birth & death comme règle de l'évolution de ces familles de gènes. Ces travaux ont également permis de voir que l'organisation génomique de ces deux familles était significativement plus clusterisée que ce qui serait attendu par hasard, avec des régions constituées de tandems de gènes dupliqués (Vieira and Rozas, 2011).

Les travaux réalisés par Vieira et al sur *N. vitripennis* ont donné un exemple intéressant d'expansion d'OBP (Vieira et al., 2012). Grâce au génome de ce parasitoïde, ils ont pu annoter 90 OBP chez cette espèce, qui possède par ailleurs plus de 200 OR dans son génome. Le génome de *N. vitripennis* contient également des OBP particulières à deux domaines, vraisemblablement issues d'un unique événement de duplication et de fusion de 2 OBP dupliquées.

Comme pour les OR, Il existe des exemples qui montrent qu'une modification, même petite, au niveau de quelques gènes d'OBP, peut entrainer de profondes modifications dans la perception sensorielle et mener à des bouleversements comportementaux.

Un très bel exemple est celui de *D. sechellia*, dont l'adaptation plus générale est détaillée dans le paragraphe suivant. En effet, les travaux de Matsuo et al. (2007) ont montré qu'une seule mutation

au niveau de 2 OBP exprimées dans les pattes de cette espèce, était impliquée dans le choix du site d'oviposition.

3. L'exemple de *Drosophila sechellia*

Un des exemples les plus frappants de contribution des gènes chimiosensoriels à l'adaptation à l'hôte est celui de *D. sechellia* (Stensmyr, 2009). Cette espèce de drosophile est endémique de l'archipel des Seychelles et a la particularité d'utiliser pour hôte le fruit toxique de *Morinda citrifolia*. Malgré la toxicité de ce fruit, *D. sechellia* est capable d'y réaliser son cycle de développement, ce que les autres espèces de drosophiles, dont *D. simulans* qui en est très proche, sont incapables de faire. L'ensemble des mécanismes à l'origine de la résistance de *D. sechellia* à la toxicité de son hôte est encore mal compris, mais il apparaît clair que plusieurs gènes chimiosensoriels sont impliqués.

Le profil de sélection des récepteurs chimiosensoriels dans le génome de *D. sechellia* est différent de celui des espèces proches. Chez *D. sechellia*, l'évolution des OR et des GR, impliquant de la sélection purifiante et de la sélection naturelle, est plus rapide. De plus, la perte de gènes est également accélérée comparée aux autres espèces. Sur les 63 gènes codant pour des OR, 6 ont des mutations entraînant des pertes de fonction chez cette espèce, se traduisant par la création de pseudogènes. Chez *D. simulans*, les 63 gènes sont *a priori* pleinement fonctionnels. De même, pour les gènes codant pour des GR, sur les 73 connus, 13 sont devenus des pseudogènes chez *D. sechellia*, alors qu'ils ne sont que 2 chez *D. simulans*. De manière intéressante, la perte de gènes semble plus importante dans le sous-groupe des récepteurs aux composés amers. Deux explications sont possibles : tout d'abord, les gènes disparus sont ceux impliqués dans la détection des composés empêchant les autres espèces d'utiliser le fruit en tant qu'hôte. Ou encore, du fait de la niche très étroite constituée par le fruit de *M. citrifolia*, une espèce spécialisée a moins de contacts avec des pathogènes ou des substances nocives, et a donc moins besoin de récepteurs à l'amer (Matsuo et al., 2007).

Une autre particularité de *D. sechellia* réside dans des modifications de taux d'expression de certains OR. Le répertoire des gènes chimiosensoriels a été étudié par des technologies de microarray par Kopp et al (Kopp et al., 2008). En utilisant des puces microarray sur tout le génome,

ils ont réalisé une étude comparative des profils d'expression des gènes antennaires de *D. sechellia*, *D. simulans* et *D. melanogaster*. Ils ont ainsi découvert que l'expression des gènes olfactifs avait évolué bien plus vite chez *D. sechellia* que chez *D. simulans*. Notamment et comme attendu, l'orthologue de OR22a chez *D. sechellia* est surexprimé par rapport aux autres espèces. En effet, cet OR est impliqué dans la détection de molécules telles que l'éthylhexanoate et le méthylhexanoate (Pelz et al., 2006) qui sont des acides présents dans le fruit du *Morinda* et spécifiques de ce dernier. De la même manière, les OBP de *D. sechellia* montrent aussi un taux d'évolution accéléré par rapport aux autres espèces proches plus généralistes. Matsuo et al ont réalisé d'intéressants travaux illustrant l'importance des OBP dans la spécialisation au fruit de *Morinda* (Matsuo et al., 2007). Deux OBP (Obp57d et Obp57e), exprimées dans les neurones gustatifs des pattes, sont impliquées dans la détection spécifique de l'acide hexanoïque et de l'acide octanoïque. Une mutation dans la région régulatrice de l'orthologue d'Obp57e de *D. sechellia* aurait altéré l'expression de ce gène, ce qui aurait favorisé la préférence pour *Morinda* en tant que site d'oviposition. Pour valider cette hypothèse, Matsuo et al ont utilisé des *D. melanogaster* transgéniques qui n'exprimaient pas les gènes du locus Obp57d/e, mais possédant un fragment génomique contenant la région Obp57d/e de *D. sechellia*. Ils ont ainsi montré que ces mouches préféraient les substrats contenant des fortes concentrations d'acide octanoïque pour l'oviposition alors que les *D. melanogaster* possédant la région Obp57d/e de *D. simulans* évitaient clairement ce type de substrat. Ainsi il semble que si la préférence de *D. sechellia* pour le fruit de *Morinda* est le fait d'une seule mutation, il est très probable que cette mutation concerne le locus Obp57d/e.

Ainsi, le rôle que peut jouer le système nerveux périphérique, et en particulier les gènes chimiosensoriels tels que les OR, GR, OBP, CSP dans l'évolution des comportements commence ainsi à être appréhendé. Cependant, le système nerveux central évolue également, contribuant aux changements comportementaux, mais ce domaine reste largement inconnu.

V. Présentation du modèle d'étude *Sesamia nonagrioides*, la noctuelle du maïs

1. Statut taxonomique

Sesamia nonagrioides (Fig. 12) a été décrite pour la première fois en 1824 en Sicile (Lefèbvre, 1827). Cet insecte a depuis porté plusieurs noms : *Cossus nonagrioides* Lefèbvre 1827; *Nonagria hesperica* Rambur, 1837; *Sesamia nonagrioides* Lefèbvre, 1852; *Nonagria sacchari* Wollaston, 1858; *Tapinostola gracilis* Rebel, 1899; *Sesamia vuterie* f. *ciccarelli* Mariani 1934. Il a fallu attendre 1953 pour que Tams et Bowden révisent le genre *Sesamia*, précisent les caractères morphologiques et proposent la classification suivante encore valide de nos jours (Kader, 2012) :

Classe: Insecta

Ordre: Lepidoptera

Sous ordre: Heteroneura

Division: Ditrysia

Sous –division: Heterocera

Super famille: Noctuoidea

Famille: Noctuidae

Sous famille: Amphipyrinae



Figure 12. *Sesamia nonagrioides* (Lefèbvre, 1827) (Lepidoptera : Noctuidae) (Photo : Calatayud P.-A.).

Quelques années plus tard, Nye (1960) fait remarquer que *S. nonagrioides* est morphologiquement très proche de celle décrite en Afrique sub-Saharienne comme *Sesamia botanephaga* et propose de les considérer comme deux sous espèces, *S. nonagrioides nonagrioides* et *S. nonagrioides botanephaga*, distribuées respectivement au Nord et au Sud du Sahara. Moyal et al. (2011) apportent des précisions sur le statut taxonomique de *S. nonagrioides* et proposent un scénario de son histoire évolutive en utilisant un gène nucléaire et deux gènes mitochondriaux. Ainsi, *S. nonagrioides* ne présenterait pas deux sous espèces comme le pensait Nye. Il y aurait en fait 3 populations isolées, une dans la région Paléarctique, une en Afrique de l'Est et une en Afrique de l'Ouest. Selon Moyal et al. (2011), la population paléarctique serait issue du croisement entre les populations de l'est et de l'ouest africain.

2. Plantes hôtes et distribution

Sesamia nonagrioides est considérée comme une espèce polyphage avec une gamme assez large de plantes hôtes, comprenant le maïs, le sorgho, le mil, le riz, la canne à sucre, les graminées, le melon, les asperges, les palmiers, les bananiers, et même la plante ornementale *Strelitzia reginaenorth* (Strelitziaceae) (Eizaguirre and Fantinou, 2012).

Cet insecte est reporté au Portugal, en Espagne, aux îles Canaries, en France, en Italie, en Grèce, à Chypre, en Turquie, au Maroc, en Israël, en Iran, en Syrie, en Ethiopie, au Ghana et dans différents autres pays Africains (Eizaguirre and Fantinou, 2012). Il a été considéré comme l'un des plus importants ravageurs du maïs en Espagne depuis 1929 (Delgado, 1929). De façon générale, il est considéré comme un important ravageur du maïs dans tout le bassin méditerranéen (Anglade, 1972; Melamed-Madjar and Tam, 1980; Rousseau, 2009; Stavrakis, 1967). En Afrique, il peut causer aussi d'importants dégâts sur maïs jusqu'à 63% de pertes de rendement par exemple au Ghana (Leyenaar and Hunter, 1977). En Afrique de l'Est et particulièrement au Kenya, *S. nonagrioides* peut se rencontrer dans les parcelles de maïs mais il n'y est pas considéré comme un important ravageur. Il est plus fréquemment présent dans des endroits humides, vivant sur Typhacées et Cypéracées (Le Ru et al., 2006).

3. Biologie et développement

Le nombre de générations par an dépend de la latitude. En Espagne du nord et en France, au sud du 45°N parallèle, le développement annuel s'effectue en deux à trois générations (Galichet, 1982; Eizaguirre et al., 1994) et même jusqu'à quatre générations au Maroc (Anglade, 1972). Sa survie hivernale, à l'état de chenilles diapausantes, est sous la dépendance de l'intensité du froid hivernal et de la pluviométrie (Bernard et al., 1989) et est induite par le raccourcissement de la durée du jour (Hilal, 1978). *Sesamia nonagrioides*, comme tous les lépidoptères, présente un développement holométabole en quatre phases : œuf, chenille, chrysalide, adulte (Fig. 13).

Les chenilles diapausantes se transforment en chrysalide dès le printemps, les adultes émergent de la fin mars à mai, et les femelles fécondées pondent des œufs entre la gaine foliaire et la tige de maïs. Les œufs de 0,5 mm de diamètre sont d'un blanc-nacré juste après la ponte (Fig. 13) et virent au rose après quelques jours d'incubation. Vers l'approche de l'éclosion un point noir correspondant à la capsule céphalique de la chenille apparaît au travers de la paroi de l'œuf (Ameline, 1999). Les jeunes larves néonates éclosent et se nourrissent des jeunes feuilles. Puis son développement passe par 5 stades larvaires (Lespes and Jourdan, 1939). Dès qu'elles atteignent le stade L3, les chenilles forent les tiges pour s'y nourrir. Au quatrième stade larvaire intervient une phase de dispersion des larves vers les pieds voisins. Ce stade est communément appelé "stade baladeur". C'est à ce stade qu'elles deviennent diapausantes le cas échéant. Dans ce cas, la chenille passe par un stade supplémentaire. Les chenilles se nourrissent de l'intérieur de la tige jusqu'à la chrysalide mesurant entre 13 et 30 mm de long selon le sexe. Les adultes ont ensuite une taille moyenne de 35 à 40 mm d'envergure selon le sexe et possèdent un dimorphisme sexuel marqué au niveau des antennes : celles des mâles sont bipectinées alors que celles des femelles sont filiformes.

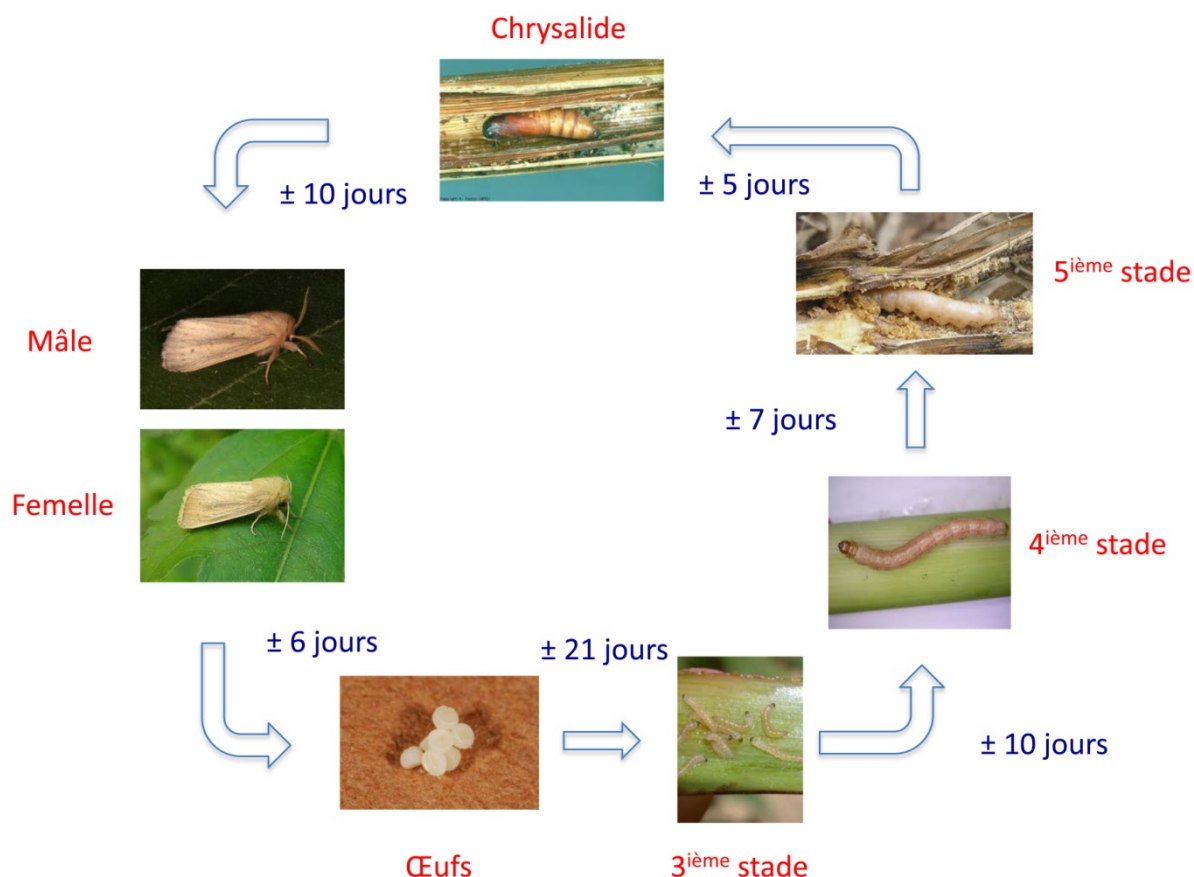


Figure 13. Cycle de développement de *Sesamia nonagrioides*.

4. Moyens de lutte

De nos jours, l'ensemble des méthodes de lutte visant à protéger les cultures s'inscrit dans le cadre de la protection intégrée (voir Ameline [1999]). Ce concept tient compte des exigences économiques, écologiques et toxicologiques visant à maintenir des populations à des seuils n'engageant que des pertes économiques tolérables (Milaire, 1995). La protection intégrée contre *S. nonagrioides* fait intervenir plusieurs moyens de lutte :

- *Techniques de lutte culturale* : il s'agit principalement de détruire les larves hivernantes présentes dans les résidus de récoltes (arrachage, incinération des tiges de maïs et broyage des résidus de récolte). De plus, il s'agit aussi de moduler les dates de semis, par exemple des semis précoces diminueront les dégâts de deuxième génération (Tsitsipis and Alexandri, 1989). Enfin, une rotation des cultures avec des plantes peu ou moins sensibles à la Sésamie est recommandée.

- *La lutte chimique raisonnée* : elle consiste à ne traiter les cultures qu'en cas de nécessité (i.e. en fonction des niveaux de populations naturelles de *S. nonagrioides*) et non pas de façon systématique. Quant aux insecticides utilisés, ils doivent aussi tenir compte du stade de

développement de *S. nonagrioides*, car une bonne partie de son développement a lieu à l'intérieur des tiges, et donc la larve est inaccessible aux pulvérisations. Ainsi, il est proposé un traitement des semences à l'imidaclopride pour lutter contre les larves de la première génération (Naibo, 1999) et des pulvérisations sur les adultes ou sur les larves aux stades baladeurs (Faure et al., 1999).

- *La lutte par confusion sexuelle ("mating disruption")*: elle consiste à perturber l'attraction sexuelle des mâles vers les femelles par une émission homogène et prolongée de substances interagissant avec les récepteurs mâles qui contrôlent leur comportement sexuel. De cette façon, les partenaires sexuels ne peuvent plus se rencontrer et leur reproduction est ainsi significativement perturbée. Différentes techniques de diffusion de phéromones sexuelles sont proposées, de l'utilisation de gros diffuseurs jusqu'à la pulvérisation par hélicoptère (Fig. 14) (Frérot et al., 1997a; Hulme and Gray, 1994).



Figure 14. Pulvérisation par hélicoptère d'une formulation utilisée dans le cadre de la confusion sexuelle de *S. nonagrioides* (source : Ameline [1999]).

- *Lutte biologique* : elle a été très peu développée pour lutter contre *S. nonagrioides*. Car peu d'ennemis naturels spécifiques à cette espèce et efficaces ont été identifiés jusqu'à présent. Néanmoins Larue mentionne l'utilisation possible d'une tachinaire *Lydella thomsoni* (Larue, 1984). Récemment, une espèce de *Cotesia* nov. sp. (Hymenoptera : Braconidae) a été découverte parasitant spécifiquement des chenilles de *S. nonagrioides* au Kenya et est en cours d'identification (Le Ru B., communication personnelle). Ce parasitoïde pourrait s'avérer être très prometteur pour lutter contre *S. nonagrioides* en Europe.

- *Utilisation du maïs transgénique* : le maïs Bt est génétiquement modifié (OGM) par l'adjonction d'un gène lui faisant produire une protéine insecticide synthétisée naturellement par la bactérie

Bacillus thuringiensis. Il a été mis au point pour résister à la Pyrale mais se montre aussi résistant vis-à-vis de la Sésamie (Decoin, 1998). Certains maïs *Bt* mis au point par Novartis sont résistants vis-à-vis de la première génération de Sésamie, d'autres mis au point par Monsanto sont résistants aux deux générations (Naibo, 1999).

5. Etat des connaissances sur la communication chimiosensorielle de *Sesamia nonagrioides*

A. Sémiochimiques actifs sur le comportement de *Sesamia nonagrioides*

a. Phéromone sexuelle

Alors que les larves se nourrissent jour et nuit, les adultes de *S. nonagrioides* présentent une activité nocturne. L'activité sexuelle a lieu pendant la deuxième partie de la nuit et à l'aube (Sreng et al., 1985). C'est la femelle qui, au cours du comportement d'appel (Fig. 15) émet la phéromone sexuelle et attire à distance le mâle. L'appel se situe entre la 4ème heure et la 8ème heure après le début de la scotophase et le pic de production phéromonale se situe au milieu de l'appel (Babilis and Mazomenos, 1992). Le mélange phéromonal produit par les femelles en appel est constitué de Z(11)-hexadecenyl acetate (Z11-16:Ac) (94%), de Z(11)-hexadecen-1-ol (Z11-16:OH) (2%) et d'hexadecanyl acetate (16:Ac) (4%) (Fig. 16) (Frérot et al., 1997b).



Figure 15. Femelle de *Sesamia nonagrioides* en appel (Photo: B. Frérot, PISC, INRA de Versailles). La première identification de la phéromone sexuelle de *S. nonagrioides* remonte à 1985.

En utilisant une méthode d'extraction dans de l'hexane d'une centaine de glandes de femelles en appel, (Sreng et al., 1985) identifient trois composés : le Z11-16:Ac (92%), le Z11- 16:OH (5%) et le 16:Ac (3%). Des tests d'olfactométrie et de piégeage sexuel conduisent à la proposition du mélange suivant comme attractif sexuel : Z11-16:Ac (90%), Z11-16:OH (10%). En effet, le 16:Ac ne paraît pas avoir d'influence sur le comportement sexuel des mâles. Dans le même temps, Rotundo et al. (1985) proposent un mélange légèrement différent, il s'agit du Z11-16:Ac (95%) et du Z11-16:OH (5%).

En 1989, Mazomenos met en évidence deux nouveaux composés en utilisant une technique d'extraction de glande dans de l'éther complétée par la collecte d'effluve dynamique sur charbon actif : il s'agit du Z11-16:Ald et du 12:Ac. Le mélange attractif alors proposé est le suivant : Z11-16:Ac (65%), Z11-16:OH (9%), Z11-16:Ald (8%), 12 Ac (18%). Il est par la suite optimisé grâce à des tests en tunnel de vol avec un support en papier filtre et grâce à du piégeage sexuel avec un support en capsule de caoutchouc : Z11-16:Ac (69%), Z11-16:OH (8%), Z11-16:Ald (8%), 12:Ac (15%) (Mazomenos, 1989).

En 1997, le mélange est de nouveau modifié au vu des résultats antennographiques couplés à des résultats de tunnel de vol (Sans et al., 1997) : Z11-16:Ac (77%), Z11-16:OH (8%), Z11-16:Ald (10%), 12:Ac (5%). Le mélange avec ces proportions légèrement différentes de celui établi par Mazomenos (1989) serait plus spécifique.

Frérot et al. (1997b) utilisent la SPME pour identifier les produits présents à la surface de glandes de femelles en appel. Cette technique consiste à frotter doucement la surface de la glande avec la fibre adsorbante de SPME. Le mélange identifié est très proche de celui proposé par Sreng et al. (1985). Il est constitué du Z11-16:Ac (94%), du Z11-16:OH (2%)

et du 16:Ac (4%). Le Z11-16:Ald et le 12:Ac n'ont pas été détectés à la surface de la glande même à l'état de traces (moins de 0,5% du mélange) alors que cette technique autorise le prélèvement de quantités importantes en phéromone (200 ng par femelle).

En 1998, l'équipe du professeur Camps identifie 0,5% de l'aldéhyde à partir d'un extrait d'une trentaine de glandes prélevées sur la souche espagnole. Par la même technique, ils ne détectent pas ce composé sur les souches française et grecque. Ce n'est qu'en faisant appel à une réaction de microchimie qu'ils parviennent à en détecter 0,5% (Rapport d'activité CEE, contrat Fair CT-96 1302).

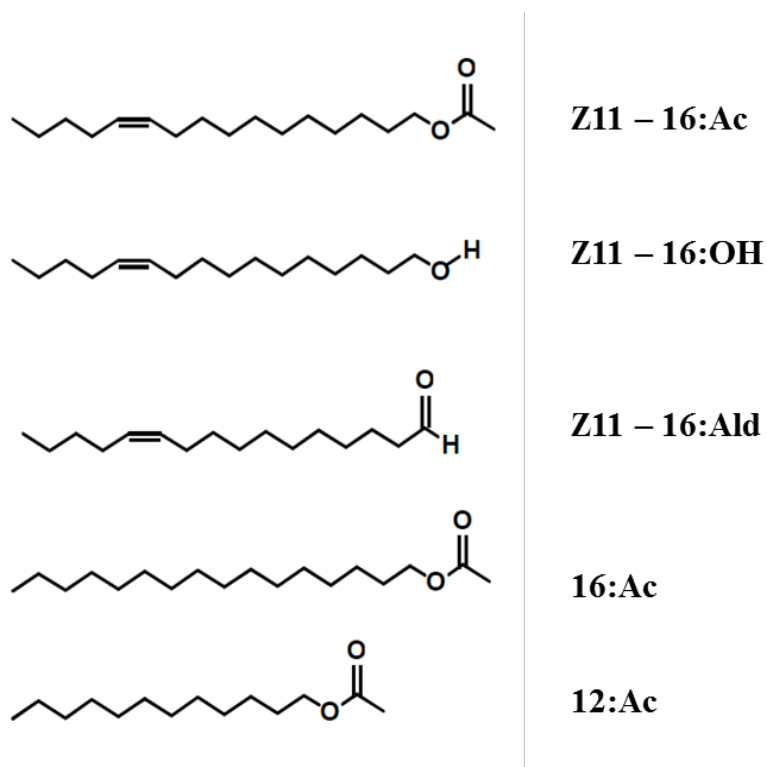


Figure 16. Composés identifiés dans la phéromone sexuelle de *S. nonagrioides*.

b. Biosynthèse de la phéromone sexuelle de *S. nonagrioides*

Comme pour la majorité des noctuelles, la production de phéromone de *S. nonagrioides* fluctue en fonction du temps. En effet, elle n'est pas produite pendant la photophase et elle n'est pas produite de façon constante durant la scotophase. Le pic de production est atteint à la sixième heure de la scotophase (Babilis and Mazomenos, 1992). Chez la plupart des papillons de nuit, comme la Sésamie, la biosynthèse de phéromone est régulée par une neurohormone, le PBAN (de l'anglais « Pheromone Biosynthesis Activating Neuropeptide »). Cette hormone, produite par le ganglion sous-oesophagien, agit directement sur la glande à phéromone pour y déclencher la biosynthèse de phéromone. Son émission rythmique expliquerait le rythme de production phéromonale (Rafaeli, 2005).

Chez *S. nonagrioides*, les composés phéromonaux sont dérivés de l'acide palmitique (16:Acide) (Mas et al., 2000) (Fig. 17). Le 16:Acide est d'abord désaturé grâce à une enzyme de type $\Delta 11$ -désaturase qui permet d'obtenir l'acide gras insaturé Z11-16:Acide. Cet acide gras est ensuite réduit par une réductase pour donner l'alcool correspondant au deuxième composé principal de la phéromone le Z11-16:OH. L'action d'une acétyl transférase sur ce dernier permet alors la production du composé phéromonal majoritaire, le Z11-16:Ac. Chez *S. nonagrioides*, l'activité de cette acétyl transférase serait contrôlée par le facteur PBAN (Mas et al., 2000). Deux voies sont ensuite possibles pour la production du troisième composé principal de la phéromone, le Z11-16:Ald. En effet il peut être obtenu par réduction du Z11-16:Acide ou par oxydation du Z11-16:OH. Cette dernière voie semble la plus plausible car déjà caractérisée chez d'autres espèces (Morse and Meighen, 1984; Teal and Tumlinson, 1987).

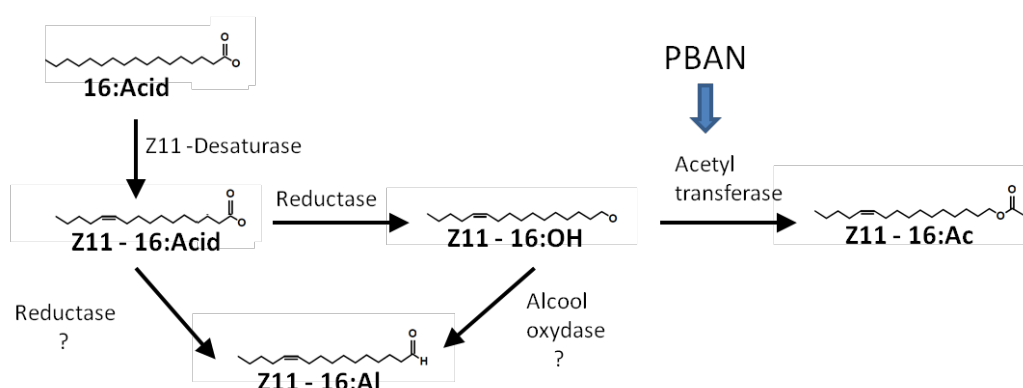


Figure 17. Voie de biosynthèse des composés de la phéromone sexuelle de *S. nonagrioides* et régulation par la neurohormone PBAN (Pheromone biosynthesis activating neuropeptide) (d'après Mas et al. [2000]).

c. Allélochimiques

Robeet and Frérot (1998) ont montré que la ponte par les femelles a lieu majoritairement au début de la première nuit consécutive à la nuit de l'accouplement. Ils ont étudié de manière détaillée le comportement de recherche et de reconnaissance des femelles à distance de la plante hôte puis le comportement d'acceptation de la plante pour la ponte à l'atterrissage. Comme beaucoup de lépidoptères, les déplacements à distance des femelles sont caractérisés par un vol en zigzag qui remonte le flux d'air, comportements typiques qui indiquent l'implication des odeurs de la plante

dans l'orientation et la recherche de la plante par les femelles. A l'atterrissage sur la plante, la femelle effectue des contacts antennaires et balaye la surface du végétal avec son ovipositeur (ou organe de ponte). Cette prospection prend fin quand l'ovipositeur entre en contact à un endroit où la gaine foliaire enserre la tige pour y insérer alors les deux valves de son ovipositeur sous la gaine de la tige et y pondre ses œufs de façon groupée sur la face interne de celle-ci (Sreng et al., 1985). On peut donc penser que pendant cette phase de prospection les composés chimiques cuticulaires peuvent jouer un rôle important dans l'acceptation de la plante pour la ponte par les femelles. De plus, Robert and Frérot (1998) ont également montré que la présence d'œufs conspécifiques sur le maïs n'influence pas le choix du site de ponte, que ce soit à distance ou au contact.

Parmi les trois catégories de volatils décrits précédemment, seules la première, l'hydroxyfarnesyl acétone, et surtout la troisième, des aldéhydes à longues chaînes (C9-C14) et d'autres dérivés d'acides gras comme le pentadécanal et l'acide eicostriénoïque méthyl ester, ont été décrites dans la littérature comme actifs sur *S. nonagrioides* (Konstantopoulou et al., 2004; Krokos et al., 2002). Ces composés se sont tous avérés être répulsifs vis-à-vis des femelles pour la ponte. Il n'y a pas de travaux identifiant un ou des composés à la surface de la plante interagissant avec la ponte chez cette espèce, si ce n'est que Konstantopoulou et al. (2002) ont montré que les composés de plante extraits par le pentane stimulent l'oviposition contrairement aux composés extraits par le méthanol qui ont un effet plutôt répulsif.

Comme pour les chenilles de la plupart des espèces de lépidoptère, le saccharose est un bon phagostimulant, permettant ainsi à la larve d'accepter le substrat pour sa prise de nourriture et son développement. Ortego et al. (1998) ont montré que le DIMBOA (2, 4-dihydroxy-7 methoxy-1, 4 – benzoxazin-3-one), un acide hydroxamique caractéristique des graminées, joue un rôle antinutritif voire toxique vis-à-vis des chenilles de *S. nonagrioides*. Ils ont montré également que les chenilles sont capables de détourner physiologiquement les méfaits de ce composé mais à un coût énergétique qui affecte significativement leurs croissances et leurs développements. Santiago et al. (2005) ont montré que, parmi les composés phénoliques, les chenilles se développent moins bien sur des plantes plus riches en acide *p*-coumarique. Ils montrèrent également que l'acide vanillique serait plutôt phagostimulant.

B. Que connaît-on des mécanismes physiologiques et moléculaires de la réception chimiosensorielle chez *S. nonagrioides* ?

Quelques études sur le système chimiosensoriel de *Sesamia nonagrioides* existent.

Tout d'abord, en ce qui concerne les types de sensilles et leurs réponses physiologiques, les travaux de (Zavaleta and Hulvey, 2004) ont permis de caractériser deux types de sensilles olfactives (A et B) et trois types d'ORN dans les antennes d'individus mâles de *S. nonagrioides*. Les sensilles de type A abritant un neurone produisant des grands pics en électrophysiologie en réponse au Z11-16:Ac, composé majoritaire de la phéromone sexuelle de *S. nonagrioides*, et un second neurone répondant avec des pics plus petits au Z11-16:Ald, un autre composé de la phéromone. Les sensilles de types B, quant à elles, abritent un neurone répondant avec des grands pics au composé majoritaire Z11-16:Ac et un neurone répondant avec des petits pics au Z11-16:OH.

Du point de vue moléculaire, quelques protéines ont été identifiées. C'est le cas de 2 PBP (SnonPBP1 et SnonPBP2), dont les ADNc ont été clonés chez le mâle par des techniques de PCR, permettant de déterminer leur séquence en acides aminés (de Santis et al., 2006). Les alignements de ces séquences protéiques avec des séquences de PBP d'autres Lépidoptères ont révélé une grande homologie de séquence (70-80%) avec les autres espèces alors qu'elle est de 46% entre ces 2 PBP. De Santis et al ont également montré que le taux d'expression de ces PBP variait selon le sexe. En effet, plusieurs travaux ont montré que les PBP pouvaient être exprimées chez les 2 sexes ; (Callahan et al., 2000; Maïbeche-Coisne et al., 1998; Vogt et al., 2002) mais différemment selon les familles d'insectes. Ainsi, chez les Saturniidae, Bombycidae, et Sphingidae, les PBP sont plus exprimées chez les mâles (Györgyi et al., 1988; Steinbrecht et al., 1995 ; 1992 ; Vogt et al., 2002), tandis que chez les Noctuidae, le taux d'expression des PBP semblent plus élevés chez les femelles (Maïbeche-Coisné et al., 1998; Callahan et al., 2000; Zhang et al., 2001). C'est ce qui a été observé chez *S nonagrioides* par de Santis et al. (2006).

D'autres travaux ont permis d'identifier 2 GOBP grâce à des techniques d'immunoblotting (Konstantopoulou et al., 2006) mais ont également permis de montrer que le taux d'expression de SnonPBP1 était plus élevé dans les antennes mâles et celui de GOBP2 plus élevé dans les antennes femelles.

Acin et al. (2009) ont réalisé une étude sur les protéines antennaires de *S. nonagrioides* mâles et femelles en utilisant plusieurs techniques d'analyses protéomiques. Ils ont pu ainsi démontrer que

les GOBP étaient plus exprimées chez les femelles confirmant ce qui avait été observé par Konstantopoulou et al. Ils ont également pu observer des différences de taux d'expression des GOBP et des PBP selon la période de la journée. En effet, les taux d'expression sont généralement plus bas durant la photophase, excepté GOBP2 qui conserve un taux élevé tout au long de la photopériode pour les deux sexes. Des taux élevés ont également été détectés pour les PBP chez les femelles, qui pourtant ne répondent pas électrophysiologiquement à leur propre phéromone, suggérant un rôle des PBP dans l'olfaction plus large que la simple détection de la phéromone sexuelle.

Une enzyme potentiellement impliquée dans la dégradation des odorants (ODE) a également été caractérisée chez la sésamie en 2007 par Merlin et al, en même temps qu'une ODE de *S. littoralis*, par clonage (Merlin et al., 2007b).

Ces quelques données illustrent bien le peu de connaissances sur le système olfactif de *S. nonagrioides* disponibles à ce jour.

C. Souches utilisées : origine et liens génétiques

Les souches de *S. nonagrioides* utilisées dans notre projet sont originaires de chenilles collectées sur maïs (*Zea mays* [Poaceae]) en provenance de Rieumes (Sud-Ouest de France, à 40 km de Toulouse, 43°22'N, 1°11'E, altitude : 300 m) pour la population française et de chenilles collectées sur *Typha domingensis* (Typhaceae) à Makindu (ville à l'Est du Kenya à 170 km de Nairobi, 02°26'S, 37°80'E, altitude : 990 m) pour la population kenyane.

Quant au lien génétique entre ces deux souches, rappelons les travaux récents de Moyal et al. (2011). Comme mentionné précédemment, ces auteurs mettent en évidence 3 populations isolées de *S. nonagrioides*, une dans la région Paléarctique, une en Afrique de l'Est et une en Afrique de l'Ouest ; et suggèrent que la population paléarctique serait issue du croisement entre les populations de l'est et de l'ouest africain. La datation des divergences moléculaires entre les clades suggère que la colonisation de *S. nonagrioides* de la région Paléarctique serait antérieure à l'agriculture et donc se serait faite plutôt naturellement que par introduction anthropique. La diversité des haplotypes mitochondriaux de la population Paléarctique est semblable à celle des espèces qui ont survécu à la dernière glaciation. Cette caractéristique est une indication forte que les populations africaines se sont vraisemblablement répandues au cours de la dernière période interglaciaire; elles auraient migré vers le nord de l'Afrique où elles se seraient croisées permettant

la fixation du génome mitochondrial. Selon ces mêmes auteurs, les populations nord Africaines auraient atteint la région Paléarctique par l'isthme de Suez et le proche Orient (Moyal et al., 2011). Bien qu'il soit difficile finalement d'avoir une idée précise de la phylogéographie de *S. nonagrioides*, il apparaît très probable que la souche Paléarctique soit issue en partie de la souche d'Afrique de l'Est.

VI. Objectifs de la thèse

Ce travail se place dans le contexte général de l'étude de l'effet de l'anthropisation sur les populations d'insectes, abordé au sein du projet ANR ADAPTANTHROP du programme « sixième extinction » et coordonné par Myriam Harry. Dans ce vaste contexte, nous avons focalisé notre étude sur la comparaison de populations naturelles trouvées sur plantes sauvages et sur plantes cultivées, ces dernières résultant de l'action de l'homme et représentant le milieu anthropisé. Enfin, nous avons limité la comparaison à l'expression des gènes, en nous focalisant plus particulièrement sur les gènes chimiosensoriels. En effet ces gènes, impliqués dans les sens chimiques de l'insecte, sont des acteurs importants du choix de la plante hôte. L'olfaction guide l'insecte vers la plante, la gustation conditionne la prise alimentaire. Pour mener à bien cette étude, nous l'avons déclinée en quatre objectifs détaillés ci-dessous :

1. Premier objectif : Identifier un modèle d'étude adapté

Le premier objectif de ce projet était de déterminer un modèle d'étude adapté à la question, c'est-à-dire pour lequel il existe des populations naturelles à la fois en milieu sauvage et en milieu anthropisé.

Le premier modèle choisi était constitué de deux populations de *Busseola segeta* (Lepidoptera : Noctuidae) présentes au Kenya, une inféodée au maïs à l'Ouest de la vallée du Rift et une autre associée au *Panicum deustum* à l'Est de cette même vallée. L'avantage de ces sous espèces résidait dans le fait qu'elles se situent dans la même région géographique, ce qui permet de s'affranchir de l'effet géographique pour la comparaison. Cependant, des études combinant des analyses moléculaires (analyses de gènes mitochondriaux et nucléaires), des observations morphologiques (anatomie des pièces génitales mâles et femelles), des analyses d'écologie chimique (analyses des

phéromones sexuelles et des périodes d'accouplement) et des études de croisements ont montré qu'il ne s'agissait finalement pas de deux populations de *B. segeta* mais de deux espèces distinctes (Félix *et al.*, soumis).

Par conséquent, le fait que nous utilisions deux espèces différentes était peu satisfaisant pour pouvoir réaliser cette étude qui consiste en une comparaison d'expression de gènes pour mettre en évidence des gènes candidats contribuant à ou reflétant l'adaptation de l'insecte. En effet, la divergence génétique entre ces deux sous-espèces aurait pu être un problème lors des alignements de séquences. De plus, les techniques utilisées dans notre approche nécessitent de grandes quantités de matériel biologique et les collectes de *Busseola* notamment en milieu sauvage se sont montrées trop hasardeuses. Ainsi, une autre espèce a été proposée : *Sesamia nonagrioides*. Cette espèce s'est révélée bien plus avantageuse dans le cadre du projet à divers points de vue. Tout d'abord, le laboratoire bénéficiait d'une expérience pour l'élevage de cette espèce. *Sesamia nonagrioides* est présente à l'est du Kenya où elle n'est collectée que sur graminées sauvages. Grâce aux collaborations avec l'ICRPE il était donc facile de se procurer ces insectes. De plus, l'espèce est également présente en France et notamment une population est présente dans la région de Toulouse dont on sait depuis récemment qu'elle est originaire d'Afrique de l'Est (Moyal *et al.*, 2011). Cette population est un important ravageur des cultures de maïs (jusqu'à 90% de pertes), ce qui rajoute à l'intérêt du modèle. Ce modèle a cependant le désavantage de proposer des populations dans des zones géographiques très différentes (France *versus* Kenya), cet effet « géographie » s'ajoutant aux effets anthropiques éventuels, et il faudra en tenir compte. Ce projet a donc débuté avec la collecte et la mise en élevage des individus de ces deux populations.

2. Deuxième objectif : Cumuler des données moléculaires sur le modèle *S. nonagrioides* par l'établissement d'un transcriptome de référence

Sans génome disponible, le second objectif a été d'obtenir des informations moléculaires sur ce modèle. Nous avons privilégié l'accumulation de données de transcriptome, car plus rapide et moins coûteux à obtenir que le séquençage de génome.

Le projet ADAPTANTHROP visant à appréhender différents effets de l'anthropisation, nous avons choisi de réaliser un transcriptome non restreint aux organes chimiosensoriels, incluant également le système nerveux central. Ainsi, ce transcriptome pouvait servir de référence aux différents partenaires du projet pour qu'ils y recherchent leurs gènes candidats favoris. Par ailleurs, nous y avons inclus des tissus collectés sur adultes et sur chenilles, et sur des individus des 2 populations. En effet, adultes et chenilles ont un comportement alimentaire différent et perçoivent les plantes hôtes avec différentes motivations : les chenilles s'y alimentent toute la journée, les papillons adultes vont y boire, et les femelles vont y pondre. L'ovipositeur des femelles est un élément important du choix du site de ponte, et porte des sensilles chimiosensorielles. Cet organe a donc également été ajouté pour le transcriptome de référence. Grâce au séquençage 454 des ARN extraits de ces tissus, et à des outils bioinformatiques permettant de traiter les données de séquençage, un transcriptome de référence des organes sensoriels peut être établi. Les données brutes issues du séquençage 454 ont d'abord été nettoyées : il s'agissait de supprimer des séquences les parties de mauvaises qualités, grâce à l'outil Prinseq, ainsi que les adaptateurs du 454, grâce à l'outil Cutadapt (Cf Méthodologie § VII). Après nettoyage, les séquences sont alors assemblées.

3. Troisième objectif : Identifier les gènes chimiosensoriels de *S. nonagrioides* par l'exploitation bioinformatique du transcriptome

Des analyses bioinformatiques sur ce transcriptome de référence ont ensuite permis de faire une recherche précise et une annotation des gènes codant pour des protéines impliqués dans la chimioréception : OR, GR, ODE, SNMP, OBP... La présence d'ovipositeurs, et donc de glandes phéromonales dans les échantillons nous a également permis de décrire des enzymes

potentiellement impliquées dans la voie de biosynthèse de la phéromone sexuelle de *S. nonagrioides*.

Ces analyses bioinformatiques sont facilitées par l'existence de nombreuses données de séquences chez d'autres espèces de lépidoptères (*Bombyx mori*, *Spodoptera littoralis*...) qui permettent grâce au BLAST à faible stringence d'identifier des candidats potentiels pour les gènes qui nous intéressent chez *S. nonagrioides*. L'une des particularités des récepteurs olfactifs et gustatifs est la faible conservation de séquence que ce soit entre gènes au sein d'une même espèce ou entre espèces. Cela rend les analyses bioinformatiques plus complexes car elles doivent donc tenir compte de cette particularité.

Ainsi, à partir du transcriptome de référence de *S. nonagrioides*, nous avons pu rechercher des gènes chimiosensoriels et les annoter. Cependant, les premières recherches n'ont permis de trouver dans le transcriptome de référence que peu de gènes chimiosensoriels et la plupart incomplets, ce qui impliquait des étapes supplémentaires de clonage pour pouvoir retrouver les séquences complètes. Cependant, la poursuite du quatrième objectif (cf ci-dessous) a permis d'obtenir une grande quantité de données de séquences supplémentaires que nous avons utilisées non seulement pour l'étude de l'expression différentielle du transcriptome mais aussi pour le compléter. Les résultats ont fait l'objet d'un article publié dans la revue « International Journal of Biological Science », qui constitue le chapitre III.

4. Quatrième objectif : Identifier des gènes dont l'expression est différente entre souches collectées sur plantes sauvages et souches collectées sur plantes cultivées, afin de mettre en évidence des gènes candidats impliqués dans l'adaptation de l'insecte

Les insectes en provenance du Kenya ou de la région Toulousaine subissent un stress de transport et d'acclimatation au laboratoire. Ces insectes sont mis en élevage pendant 2 générations avant l'étude. Cela permet d'éviter de mélanger les effets stress aux effets recherchés et de ne regarder que les effets génétiques.

Cet objectif a consisté à utiliser une approche Illumina RNAseq pour comparer l'expression des transcriptomes des organes sensoriels des deux populations de *S. nonagrioides*. Pour cela, il est nécessaire de collecter les tissus qui nous intéressent et d'en extraire les ARN. Ainsi, nous avons

constitué plusieurs banques ARN. Une banque d'ARN d'ovipositeur (et glandes phéromonales) de femelles et une banque d'ARN d'antennes de femelles pour chaque population de *S. nonagrioides*. Nous avons également constitué trois banques par population contenant un mélange d'ARN de palpes et d'antennes de larves.

Les échantillons ainsi obtenus ont ensuite été envoyés à GATC pour être séquencés par la technique Illumina. Les données obtenues ont alors été intégrées au transcriptome de référence avant d'être utilisées pour la comparaison d'expression de gènes entre les populations. En effet, le séquençage Illumina, du fait de la technique, produit une très grande quantité de données par rapport au séquençage 454, mais les lectures sont plus courtes. Cependant bénéficiant des séquences de 454 relativement longues, il était possible de les utiliser comme squelette et d'y intégrer les séquences d'Illumina pour compléter notre référence. Ainsi, après nettoyage des lectures de RNAseq, grâce à Prinseq et Cutadapt, celles-ci ont été assemblées avec l'outil MIRA (Cf Méthodologie § VII). Cela a permis de constituer un pool de séquences qui, combinées aux lectures nettoyées de 454 ont subi un deuxième assemblage avec l'outil Trinity. Ainsi nous avons constitué un nouveau transcriptome de référence plus complet, grâce auquel nous avons pu trouver un plus grand nombre de gènes chimiosensoriels de meilleure qualité.

Le séquençage RNAseq est un séquençage permettant des analyses quantitatives. En effet, son principe repose sur le fait que plus un gène est exprimé, plus des fragments des ARN correspondant à ce gène seront séquencés. Ainsi par alignement des lectures obtenues à l'issue du séquençage sur le transcriptome de référence, il est possible d'une part de déterminer à quels gènes appartiennent les fragments, mais également de compter le nombre de fragments s'alignant sur un gène du transcriptome de référence. Après normalisation des différentes banques de nos échantillons, il est alors possible de comparer les niveaux d'expression des gènes. L'alignement des lectures est réalisé grâce à l'outil bowtie et la suite DeSeq permet de réaliser les comptages et analyses statistiques (cf Matériel et méthodes). Le séquençage RNAseq a été exploité pour : 1) comparer les niveaux d'expression de certains gènes cibles entre adultes et chenilles 2) identifier les gènes sur ou sous exprimés en fonction de nos populations, comme autant de gènes candidats à l'adaptation aux plantes cultivées ou aux zones géographiques.

Les résultats du point 1) ont été inclus dans l'article publié (chapitre II), et les résultats du point 2) font l'objet d'un manuscrit prêt à soumettre, et qui constitue le chapitre III.

VII. Méthodologies

1. Elevage

Les deux souches de *S. nonagrioides* ont été établies à l'INRA de Versailles. Tout le cycle de développement s'effectue dans une chambre climatisée en photopériode inversée (16 heures de photophase / 8 heures de scotophase). La température est maintenue à $24,4 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$ et l'humidité à $54,4 \pm 5,8\%$ (moyennes $\pm$ ES).

Technique d'élevage :

- les accouplements : une dizaine de couples sont placés pendant cinq jours dans une cage (40 x 30 x 30 cm) contenant 4 papiers enroulés de façon hélicoïdale comme support de ponte (Fig. 18).
- les pontes déposées sur le papier sont prélevées et sont ensuite placées jusqu'à l'éclosion dans une boîte de Pétri contenant une tige de coton imprégné d'eau distillée.
- les chenilles néonates sont placées jusqu'au 2-3ème stade larvaire dans des beurriers rectangulaires en plastique à couvercle grillagé (30 x 10 cm) contenant un jeune plant (stade 4-5 feuilles) de maïs coupés dont la tige trempe dans un coton imprégnée d'eau.
- toutes les chenilles sont ensuite retirées du maïs et placées dans un autre beurrier similaire au précédent contenant plusieurs blocs de milieu nutritif semi- artificiel à base d'agar-agar, mis au point par Poitout and Bues (1970) et légèrement modifié (voir composition en annexe I).

Le milieu nutritif ainsi que les boîtes sont remplacés chaque semaine.

- Les sexes sont séparés au stade nymphal et les chrysalides sont placées dans des beurriers rectangulaires en plastique (20 x 10 cm) avec du coton humidifié.
- les émergences sont contrôlées quotidiennement afin de disposer d'individus d'âge connu. Les adultes sont ensuite maintenus dans des beurriers rectangulaires en plastique (20 x 10 cm) dans lesquelles est placé du coton humidifié.

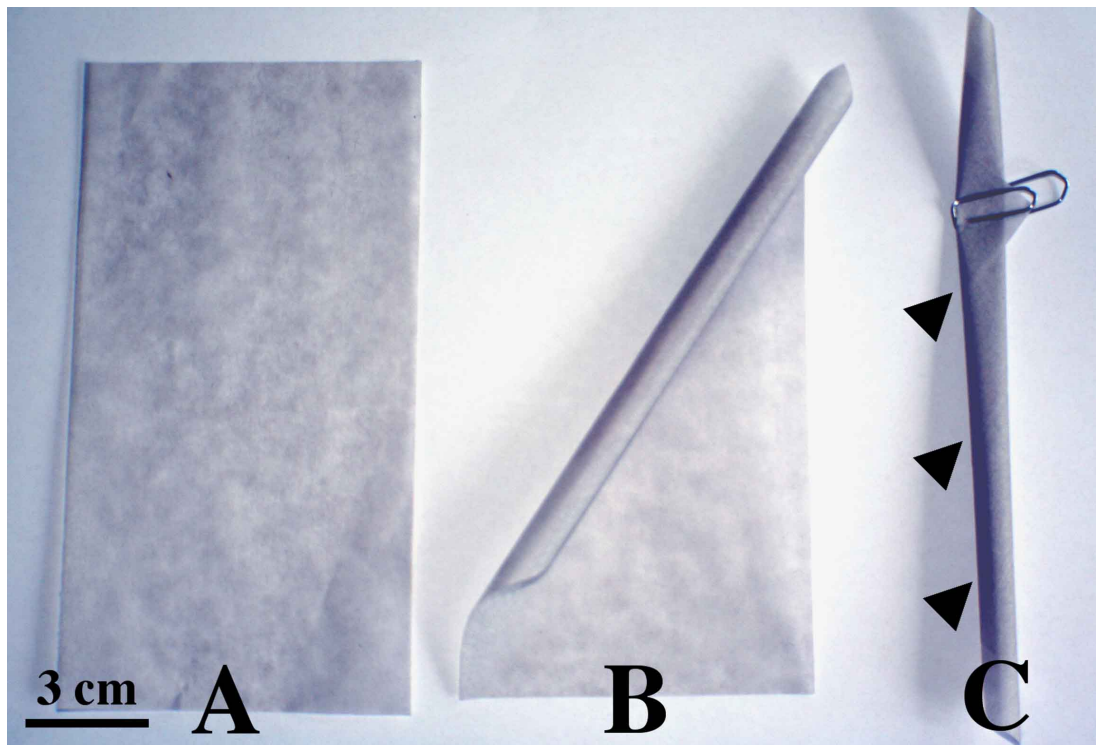


Figure 18. Étapes de préparation d'une tige de papier alimentaire pour recueillir les œufs de *Sesamia nonagrioides*. (A) Un morceau de papier rectangulaire (17 × 9 cm) est (B) enroulé en hélice de haut en bas et (C) maintenue en position avec un trombone au sommet. Les œufs sont pondus dans une rangée linéaire dans les rainures qui en résultent (voir les flèches) obtenues après laminage du papier.

2. Séquençage haut débit

Les nouvelles technologies de séquençage (NGS) ont été largement utilisées dans cette thèse, pour : 1) établir le transcriptome de référence de *S. nonagrioides*, et 2) analyser l'expression différentielle de ce transcriptome en fonction des deux souches utilisées. Ces technologies nouvelles méritent qu'on en présente le principe.

A. Séquençage 454

Un premier séquençage des ARN issus d'antennes d'adultes et de larves, de palpes de larves, de cerveaux de larves et d'adultes et de glandes de femelle a été réalisé par la technique 454. Pour

cela, ces différents tissus ont été disséqués puis leurs ARN totaux ont été extraits et mélangés pour ensuite être envoyés à la société GATC pour synthèse d'ADNc et séquençage 454. Cette technologie combine la méthode de pyroséquençage (Ronaghi et al., 1998) et de PCR en émulsion. Cette technique permet de séquencer en temps réel des fragments d'ADN pouvant atteindre jusqu'à 1000 paires de bases (pb). Seules les molécules d'ADN peuvent être séquencées. Dans le cas d'échantillons d'ARN, une première étape de transcription reverse est réalisée. Cela permet de générer un ADNc qui sera alors séquencé. Cette étape fait appel à des adaptateurs universels qui sont fixés sur l'extrémité 5' de chaque brin d'ARN, permettant la synthèse d'un ADNc simple brin qui sera alors utilisé pour la suite du séquençage.

Les acides nucléiques extraits des organes d'intérêt sont fractionnés mécaniquement en fragments de taille aléatoire. Les adaptateurs nécessaires à l'étape de PCR en émulsion et à la réaction de séquençage (adaptateur A et adaptateur B, fig. 19) sont ensuite ajoutés aux extrémités de ces fragments. Ces fragments sont double brin et chacune de leurs extrémités possède un adaptateur (A ou B) et son brin complémentaire. Les adaptateurs sont ajoutés à l'ADN en présence de ligase. La ligature n'étant pas orientée, trois cas de figure sont alors possibles :

- 1) les fragments d'ADN possèdent un adaptateur A à chaque extrémité ;
- 2) un adaptateur B à chaque extrémité ;
- 3) un adaptateur A sur l'une des extrémités et B sur l'autre.

Seuls les brins possédant les deux adaptateurs sont utilisés pour la suite. Le tri s'effectue grâce à la biotine fixée sur l'un des brins de chaque adaptateur B. La biotine possède une très forte affinité avec la streptavidine, ainsi, les extrémités B se fixent toutes sur des billes portant des molécules de streptavidine. Après lavage, les brins possédant deux extrémités A sont éliminés. Seuls restent les brins possédant soit une extrémité B, soit deux extrémités B. L'étape suivante consiste à dénaturer les brins

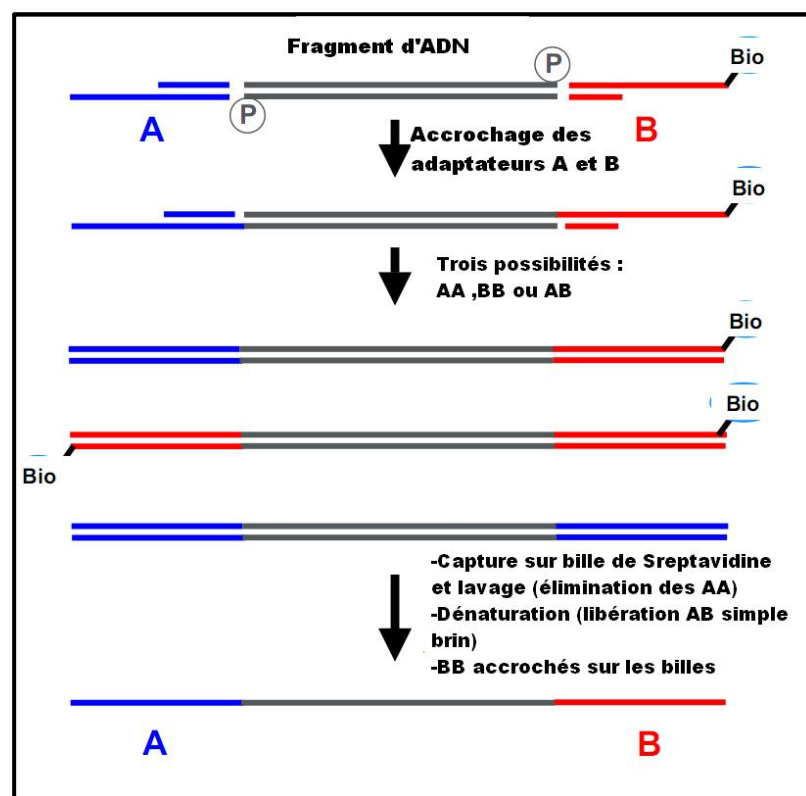


Figure 19. Schéma représentant les adaptateurs utilisés lors du séquençage 454.

d'ADN, ainsi les brins possédant une extrémité A et une extrémité B se détachent tandis que les brins possédant deux extrémités B restent fixés sur les billes par la liaison biotine-streptavidine.

Le mélange restant est alors uniquement composé des ADN ayant un adaptateur différent à chaque extrémité.

L'ADN, alors simple brin, est mis au contact de billes portant l'un ou l'autre des brins complémentaires des adaptateurs A et B. Il y a donc deux types de billes selon l'adaptateur porté : les billes A et les billes B. Les billes A fixent les fragments par l'adaptateur A, laissant libre l'adaptateur B tandis que les billes B fixent les fragments par l'adaptateur B laissant libre l'adaptateur A. Le nombre de billes utilisées est tel qu'il est statistiquement peu probable que deux fragments se fixent sur une même bille. Les billes sont ensuite mises dans une émulsion permettant d'individualiser chaque bille et contenant les composés nécessaires à la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) (Fig. 20). La quantité de volume réactionnel est ici aussi calculée de manière à ce qu'une goutte de ce milieu ne contienne qu'une seule bille. L'étape de PCR peut alors être initiée, chaque goutte de milieu constituant un microréacteur.

En prenant l'exemple des billes B, au cours du premier cycle de PCR, l'amorce B associée au fragment d'ADN initial va assurer la synthèse de son brin complémentaire. Au cycle suivant, après dénaturation, la molécule d'ADN simple brin néo-synthétisée reste fixée sur la bille et va être utilisée pour la synthèse d'une autre matrice à partir de l'amorce A présente dans le milieu réactionnel. La molécule d'ADN simple brin de départ est quant à elle réutilisée par une autre amorce B fixée sur la bille. Après plusieurs cycles de PCR la bille est ainsi recouverte de plusieurs millions de molécules d'ADN simple brin identiques fixées par l'amorce B.

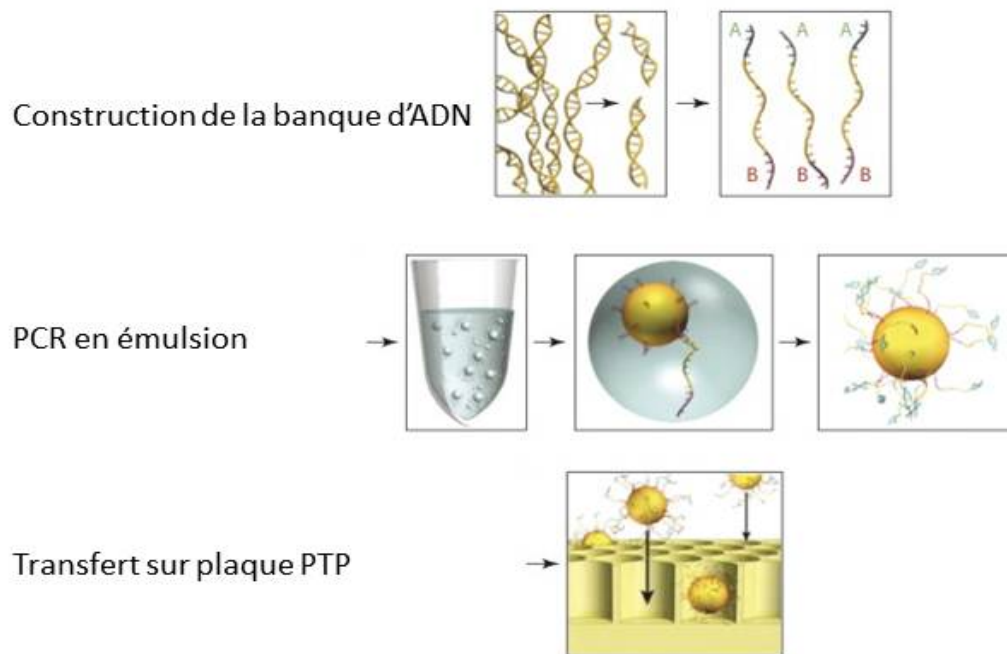


Figure 20. Principales étapes du séquençage 454.

Après cette étape d'amplification, les billes sont déposées sur une plaque PTP (Pico Titer Plate) contenant 1,4 millions de puits dont les diamètres vont permettre de ne récupérer qu'une seule bille. C'est au sein de chacun de ces puits que va se dérouler la réaction de pyroséquençage. Contrairement à un séquençage classique de type Sanger, les nucléotides (A, T, G, C) sont ajoutés de manière séquentielle et ce plusieurs fois de suite définissant ainsi le « flow cycle ». A chaque ajout d'un nucléotide, un traitement avec une apyrase permet d'en éliminer le surplus. La fixation d'un nucléotide sur le brin d'ADN matrice est accompagnée de la libération de pyrophosphate inorganique qui est alors utilisé par l'ATP sulphurylase pour produire de l'ATP (Fig. 21). La luciférase utilise alors cet ATP ainsi que la luciferine pour produire de l'oxyluciférine et un signal lumineux. Ce signal lumineux est alors détecté par un capteur CCD et la séquence du brin est ainsi décryptée au fil de la polymérisation du brin complémentaire et ce simultanément pour chaque puit de la plaque de séquençage (soit 1,4 million de puits).

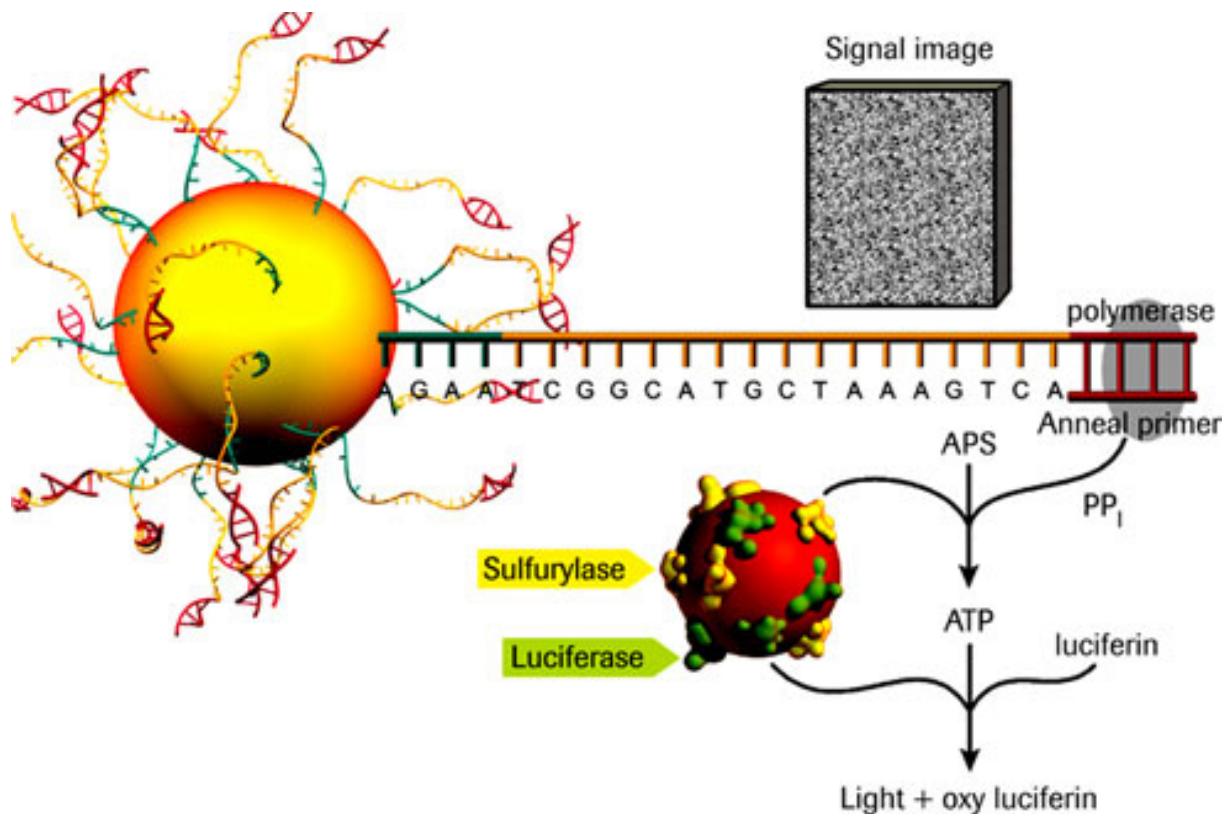


Figure 21. Représentation de la réaction de pyroséquençage (454).

La technique de séquençage 454 permet de générer en 8h environ 1 million de séquences pouvant atteindre 1000pb pour un cout d'environ 12€/Mb.

B. Séquençage Illumina

Pour améliorer la qualité du transcriptome de référence, les données d'un second séquençage, destiné à l'étude de l'expression différentielle de gènes, ont été incorporées à ce transcriptome. Pour ce deuxième séquençage, la technique Illumina (RNAseq) a été utilisée à partir de 10 banques d'ARN :

- 1 banque d'ARN d'antennes de femelles par population ;
- 1 banque d'ARN de glandes phéromonales par population ;
- 3 banques d'un mélange d'ARN d'antennes et de palpes de larves par population.

Ces banques ont également été séquencées par la société GATC. Le séquençage Illumina est quantitatif. Il génère de plus une plus grosse quantité de séquences (de l'ordre de la centaine de millions) mais avec une taille plus courte (jusqu'à 200pb contre 1kbp pour le 454).

Le principe de ce séquençage est fondé sur l'incorporation réversible de nucléotides fluorescents (CRT : cyclic reversible termination) et la lecture optique de la fluorescence. Comme pour la technique de Sanger il s'agit d'une terminaison de synthèse basée sur l'utilisation d'un terminateur réversible contenant un groupement de protection attaché au nucléotide qui termine la synthèse d'ADN. L'élimination du groupement de protection par photoclivage utilisant la lumière ultraviolette (> 300nm) permet la restauration du groupement fonctionnel du nucléotide incorporé, ce qui permet à l'ADN polymérase d'incorporer le prochain nucléotide et ainsi de suite.

La première étape du RNAseq est la préparation des banques. En effet, ici aussi, seul l'ADN est séquencé. Il faut donc synthétiser des brins d'ADNc à partir de l'ARN de l'échantillon par transcription reverse. A la fin de cette étape, on dispose d'ADNc doubles brins dont les extrémités sont réparées (pour avoir des bouts francs), phosphorylées en 5' et adénylées en 3'. Ces extrémités permettent ensuite la ligation des adaptateurs permettant la réaction de séquençage. Ces adaptateurs possèdent plusieurs sites avec des fonctions distinctes. Des sites de fixation à une plaque de séquençage, des amorces pour le séquençage et éventuellement des étiquettes (Tags) permettant de séquencer plusieurs échantillons (jusqu'à 24) sur une même réaction. La banque d'ADNc est alors purifiée et sa qualité est contrôlée par bioanalyseur ou qPCR.

La deuxième étape est l'amplification de la banque d'ADNc. Pour cette étape l'échantillon est déposé sur une plaque recouverte d'adaptateurs complémentaires des sites de fixation des brins d'ADNc. Cela permet la fixation des brins, préalablement dénaturés, par une de leurs extrémités sur la plaque. Une première polymérisation permet de générer le brin complémentaire de chaque fragment d'ADNc et les doubles-brins ainsi formés sont dénaturés. Les brins néosynthétisés se fixent à leur tour aux adaptateurs de la plaque. La réaction de PCR peut alors débuter avec la formation de pont par chaque brin d'ADNc. En effet les deux extrémités de chacun de ces brins se fixent à un adaptateur de la plaque. La polymérase synthétise pour chaque pont le brin complémentaire et les doubles brins ainsi formés sont dénaturés ce qui génère 2 simples-brins fixés à la plaque par une de leurs extrémités. Après plusieurs cycles d'amplification, la plaque porte plusieurs « clusters » de brins d'ADNc identiques (entre 750 et 850 000 clusters /mm²).

La dernière étape peut débuter avec la réaction de séquençage. Il s'agit d'un séquençage par synthèse (Fig. 22). Les nucléotides sont marqués avec un marqueur fluorescent spécifique et porte un terminateur labile. Ce terminateur empêche l'incorporation d'un second nucléotide. Lors de la synthèse des brins complémentaires de chaque fragment d'ADNc de la plaque, chaque nucléotide fixé émet une fluorescence spécifique de ce nucléotide. L'avantage est qu'à chaque cycle de la synthèse, les quatre nucléotides sont ajoutés et leur fixation est spécifiquement détectée grâce à une caméra, à la fin d'un cycle le fluorochrome et le terminateur sont libérés et un nouveau cycle débute. Le décryptage de la séquence des brins est ainsi réalisé en temps réel.

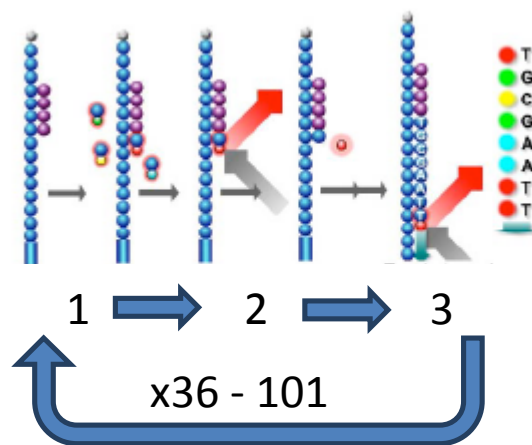


Figure 22. Déroulement de la réaction de séquençage par synthèse :

1) Ajout des 4 nucléotides fluorescents. 2) Détection et enregistrement de l'incorporation du nucléotide fluorescent. 3) Libération du fluorochrome et du terminateur (d'après <http://get.genotoul.fr>).

Chaque plaque est divisée en huit lignes qui peuvent accueillir 360 millions de séquences chacune et chaque « run » de séquençage est réalisé sur deux plaques. Il est ainsi possible de séquencer jusqu'à 600 Gigabases en un « run » pour une durée de réaction de 15 jours et un coût moyen d'environ 0.1€/Mb. Le principal inconvénient de cette technique est la taille des lectures (jusqu'à 200pb). Cela implique un gros investissement bioinformatique pour analyser les données générées (Tableau 1).

	Sanger	454	Illumina
Bases / lecture	1100	1000	200
lectures / run	96	1 million	> 5 milliards
Rendement	1 Mb / day & instrument	400 Mb / run	> 600 Gb / run
cout	5000€/Mb	12€/Mb	0,1€/Mb

Tableau 1. Comparaison des caractéristiques des séquençages Sanger, 454 et Illumina.

3. Bioinformatique

A. Assemblage

Afin d'obtenir un transcriptome le plus complet possible, nous avons réalisé un assemblage de toutes les données obtenues grâce aux deux séquençages. Ces données sont donc constituées des lectures obtenues par le séquençage 454 et les lectures des 10 banques obtenues par séquençage Illumina. L'assemblage final constituant le transcriptome de référence a été réalisé grâce aux outils et aux ressources disponibles à la plateforme de bioinformatique GenOuest de l'IRISA de Rennes et grâce à l'aide précieuse de Fabrice Legeai.

Avant l'assemblage, les séquences ont été triées selon leur qualité et débarrassées des adaptateurs utilisés lors des étapes de séquençage (cf § VII.2). Pour cette étape de tri et de nettoyage de séquences, nous avons utilisé les outils Prinseq (Schmieder and Edwards, 2011) pour le tri des séquences de mauvaise qualité, Cutadapt pour éliminer les séquences des adaptateurs et FastQC (Andrews, 2010) pour contrôler le résultat de nos manipulations. Cet assemblage s'est ensuite déroulé en deux grandes étapes : Tout d'abord les séquences nettoyées d'Illumina ont été préalablement assemblées en un premier assemblage grâce à l'outil Trinity (Grabherr et al., 2011). Cela a permis d'obtenir un plus petit nombre de séquences à traiter et de plus grande taille. Les contigs ainsi obtenus ont ensuite été assemblés avec les lectures nettoyées issues du séquençage 454 grâce à l'outil Mira (Chevreux et al., 1999). Le résultat de ces deux assemblages nous a alors fourni le transcriptome de référence nécessaire pour le projet.

B. Annotation

Afin de décrire le transcriptome de référence dans son ensemble, les contigs obtenus ci-dessus ont été comparés à la base de données publique « Genbank » par « BLAST » (Basic Local Alignment Search Tool) (Altschul et al., 1990) afin de trouver les séquences déjà référencées auxquelles ressemblent le plus nos contigs. L'outil informatique « BLAST2GO » a ensuite été utilisé pour répartir les contigs ainsi annotés dans les grandes familles de processus biologiques, de fonctions

moléculaires et de composants cellulaires. A chaque contig est affectée une catégorie de « Gene Ontology », permettant d'assigner à ce contig une annotation potentielle.

C. Recherche de nouveaux gènes chimiosensoriels

La recherche de gènes d'intérêt (OR, OBP, IR...) se fait ensuite par comparaison de séquences de protéines appartenant à ces familles d'intérêt. Cela implique donc de collecter les séquences protéiques de gènes d'intérêt déjà connues chez d'autres espèces d'insectes afin d'établir une référence pour les comparaisons. Ces comparaisons sont ensuite réalisées grâce à différentes versions du programme BLAST. Les contigs de notre transcriptome sont alors comparés par l'une des versions de BLAST, le tBLASTn avec la référence de protéines d'insectes. Chaque contig dont la séquence est suffisamment proche de celle d'une protéine de la référence est isolé et étudié plus en détail. Pour confirmer l'intérêt de ce contig isolé, celui-ci est comparé aux séquences de GenBank par BLASTx. Cette deuxième comparaison par BLAST peut fournir une indication pour une première annotation. La séquence nucléique est alors traduite en protéine et aligné avec les séquences protéiques des gènes déjà connus de la même famille de gènes. Cela permet également de vérifier si la séquence codante est complète. Si la séquence est complète ou suffisamment longue, il est alors possible de rechercher des motifs spécifiques, tels que le nombre de cysteines pour les protéines de liaison ou les domaines transmembranaires pour les récepteurs.

Chapitre 2 : Etablissement du transcriptome chimiosensoriel et identification de gènes candidats à la chimioréception chez le foreur des tiges, *Sesamia nonagrioides*

Introduction

Le but de cette étude a été d'obtenir des données transcriptomiques pour *S. nonagrioides* avec le double objectif d'identifier des gènes chimiosensoriels candidats et d'obtenir un transcriptome de référence pour l'étude comparative des deux populations de *S. nonagrioides*.

En effet, malgré son impact économique en agronomie, très peu de données sont disponibles sur les acteurs moléculaires impliqués dans la détection des signaux chimiques chez cette espèce. Seules 2 PBP et 2 autres OBP ont été décrites par clonage et analyse protéomique (de Santis et al., 2006; Konstantopoulou et al., 2006) (Acin et al., 2009) *et al.*, 2009) et un gène codant pour une estérase potentiellement impliquée dans la dégradation des composés de la phéromone sexuelle de type acétate a été clonée (Merlin et al., 2007b). En particulier, aucun candidat de récepteur olfactif n'a été identifié.

Dans cette étude, nous avons tiré profit des nouvelles technologies de séquençage à haut-débit (454 et Illumina) pour séquencer le transcriptome de différents tissus, essentiellement chimiosensoriels. Ainsi des antennes de mâles et de femelles adultes, des antennes et des palpes maxillaires de chenilles ont été disséqués et leurs ARN extraits. Des ovipositeurs de femelles ont également été ajoutés car ces organes portent des sensilles chimiosensorielles (cf chapitre 1 §II.2.B, Figure 7C, p29). Egalement, des PBP et des OR ont été montrés comme exprimés dans les ovipositeurs de la noctuelle *Heliothis virescens* (Widmayer et al., 2009). Ainsi, cet organe pourrait avoir des fonctions olfactives et/ou gustatives, que la femelle mettrait à profit pour tester la plante comme support de ponte. Il était donc important d'inclure ce tissu pour le transcriptome. Comme l'ovipositeur est étroitement lié à la glande à phéromone chez cette espèce, nous avons également séquencé des transcrits issus de cette glande, ce qui nous a donné l'opportunité d'annoter des enzymes potentiellement impliquées dans la biosynthèse des composés de la phéromone sexuelle de *S. nonagrioides*. Le transcriptome devant également servir de support à d'autres tâches du projet ANR Adaptanthrop, comme l'étude du gène *foraging* codant pour une protéine kinase cGMP-dépendante qui serait impliquée dans la régulation du comportement de recherche de nourriture (Renger et al., 1999), nous avons également inclus des cerveaux adultes (mâles et femelles) et chenilles dans le transcriptome.

Tous ces tissus ont été disséqués à partir des deux populations de *S. nonagrioides*, et les ARN ont été mélangés, afin d'obtenir un transcriptome le plus large possible. Le séquençage a été confié à la

société GATC. Pour le traitement bioinformatique des données brutes obtenues, je remercie chaleureusement Aurore Gallot, post-doctorante en bioinformatique au laboratoire et Fabrice Legeai, de la plateforme GenOuest à Rennes, pour leurs enseignements et leur aide précieuse. Ainsi les données ont pu être nettoyées et assemblées pour construire *de novo* un transcriptome de *S. nonagrioides* décrit dans l'article qui suit, publié dans la revue « International Journal of Biological Sciences ».

Par l'utilisation d'outils bioinformatiques (essentiellement BLAST, mais aussi SignalP pour la prédiction des peptides signaux des OBP et CSP, HMMTop pour la prédiction des domaines transmembranaires des OR et IR) nous avons pu identifier dans ce transcriptome un panel de gènes chimiosensoriels chez *S. nonagrioides*. Ce type d'approche s'est déjà révélé efficace pour identifier des gènes chimiosensoriels peu conservés comme les OR chez d'autres espèces de Lépidoptères : *Spodoptera littoralis* (Jacquin-Joly et al., 2012; Legeai et al., 2011) , *Manduca sexta* (Grosse-Wilde et al., 2011b), *Cydia pomonella* (Bengtsson et al., 2012) et *Helicoverpa armigera* (Liu et al., 2012).

Nous avons été en mesure d'identifier 68 gènes candidats à la chimioréception chez cette espèce, dont 31 gènes codant pour des protéines de liaisons (OBP et CSP) et 23 gènes codant pour des récepteurs chimiosensoriels (13 OR et 10 IR). Ainsi, ce travail constitue la première description à grande échelle de gènes chimiosensoriels chez *S. nonagrioides*.

En particulier, nous avons annoté les trois co-récepteurs ORco (co-récepteur des OR), IR25a et IR8a (co-récepteurs des IR) nécessaires au fonctionnement de la réception chimiosensorielle. Concernant le système de communication phéromonale, nous avons identifié une nouvelle protéine de liaison des phéromones chez cette espèce, PBP3, quatre récepteurs aux phéromones sexuelles potentiels (PR) et 12 carboxylestérases potentiellement impliquées dans la dégradation des composés phéromonaux de type acétate, ainsi que deux SNMP. Une étude d'expression en RT-PCR a été initiée sur les OR afin de révéler d'éventuels OR spécifiques d'un sexe chez les adultes. En effet, le système olfactif des mâles étant essentiellement orienté vers la détection de la phéromone sexuelle femelle et le système olfactif des femelles étant orienté vers la détection des odeurs de plante (choix d'un site de ponte adéquate), on peut s'attendre à une expression différentielle des OR respectifs. Ainsi, nous avons identifié un OR spécifique des mâles (cf Figure 5 de l'article), qui apparait donc comme un bon candidat à la réception des phéromones, ce qui est par ailleurs conforté par sa position phylogénétique dans le clade des récepteurs aux phéromones des lépidoptères (cf Figure 4 de l'article). L'ajout des ARN issus des ovipositeurs femelles, qui contiennent la glande phéromonale, nous a permis d'annoter des enzymes potentiellement

impliquées dans la biosynthèse de la phéromone, telles que des désaturases, des acétyltransferases et des réductases.

Enfin, outre leur utilisation pour compléter le transcriptome, les données Illumina ont également été exploitées pour quantifier les taux d'expression dans les différents tissus séquencés (antennes femelles, antennes et palpes chenilles, ovipositeurs) des gènes annotés comme chimiosensoriels ou comme impliqués dans la biosynthèse des phéromones. En effet, un enrichissement dans les organes chimiosensoriels supporte une annotation comme gène chimiosensoriel, de même un enrichissement dans la glande à phéromone supporte une annotation comme enzyme de biosynthèse des phéromones. Ainsi les lectures Illumina ont été alignées sur le transcriptome de référence et comptabilisées après normalisation des banques. Certaines observations permettent de valider cette approche : on observe par exemple et comme attendu un enrichissement des co-récepteurs ORco, IR25a et IR8a dans les organes chimiosensoriels. De même, le gène codant pour la $\Delta 11$ -désaturase, enzyme spécifique de la biosynthèse des phéromones de lépidoptères, est enrichi dans les ovipositeurs/glandes à phéromone. Ainsi cette étude d'expression apporte des arguments supplémentaires pour supporter l'annotation des gènes chimiosensoriels (e.g. OR et IR enrichis dans les organes chimiosensoriels) et permet de mettre lumière certains gènes et de proposer des hypothèses. On note par exemple:

- une estérase (CX5) enrichie dans l'ovipositeur/glande à phéromone, qui pourrait réguler la biosynthèse des phéromones à la source par dégradation des acétates
- une OBP (OBP3) et une CSP (CSP11) enrichies chez les chenilles, qui pourraient être impliquées dans les comportements chimiosensoriels spécifiques de ce stade développemental.

Bien que ce répertoire de gènes chimiosensoriels soit vraisemblablement incomplet (13 OR identifiés, habituellement entre 40 et 60 chez les autres lépidoptères), le transcriptome établi représente une ressource de référence pour la suite de ce travail (cf chapitre 4) mais également pour la communauté scientifique qui s'intéresse à cette espèce puisque toutes les données ont été rendues librement accessibles dans la base de données Lepidodb (http://www.inra.fr/lepidodb/sesamia_nonagrioides).

Research Paper

Candidate Chemosensory Genes in the Stemborer *Sesamia nonagrioides*

Nicolas Glaser^{1,2}, Aurore Gallot^{1,3}, Fabrice Legeai³, Nicolas Montagné⁴, Erwan Poivet¹, Myriam Harry^{5,6}, Paul-André Calatayud^{2,7}, Emmanuelle Jacquin-Joly¹✉

1. INRA, UMR 1272, Physiologie de l'Insecte : Signalisation et Communication, route de Saint-Cyr, F-78026 Versailles cedex, France;
2. IRD, UR 072, c/o CNRS, Laboratoire Evolution, Génomes et Spéciation, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France;
3. IRISA, équipe GenScale, Campus universitaire de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, France;
4. UPMC - Université Paris 6, UMR 1272 Physiologie de l'Insecte : Signalisation et Communication, 7 quai Saint-Bernard, F-75252 Paris cedex 05, France;
5. Université Paris-Sud 11, 91405 Orsay Cedex, France;
6. CNRS UPR9034, Laboratoire Evolution, Génomes et Spéciation, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France.
7. IRD, UR 072, c/o ICIPE, NSBB Project, PO Box 30772-00100, Nairobi, Kenya.

✉ Corresponding author: Dr Emmanuelle Jacquin-Joly, INRA, UMR 1272 INRA-UPMC Physiologie de l'Insecte : Signalisation et Communication, route de Saint-Cyr, F-78026 Versailles cedex, France. Tel: (33) 1 30 83 32 12; fax: (33) 1 30 83 31 19; E-mail: emmanuelle.jacquin@versailles.inra.fr.

© Ivyspring International Publisher. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>). Reproduction is permitted for personal, noncommercial use, provided that the article is in whole, unmodified, and properly cited.

Received: 2013.03.20; Accepted: 2013.05.02; Published: 2013.05.21

Abstract

The stemborer *Sesamia nonagrioides* is an important pest of maize in the Mediterranean Basin. Like other moths, this noctuid uses its chemosensory system to efficiently interact with its environment. However, very little is known on the molecular mechanisms that underlie chemosensation in this species. Here, we used next-generation sequencing (454 and Illumina) on different tissues from adult and larvae, including chemosensory organs and female ovipositors, to describe the chemosensory transcriptome of *S. nonagrioides* and identify key molecular components of the pheromone production and detection systems. We identified a total of 68 candidate chemosensory genes in this species, including 31 candidate binding-proteins and 23 chemosensory receptors. In particular, we retrieved the three co-receptors Orco, IR25a and IR8a necessary for chemosensory receptor functioning. Focusing on the pheromonal communication system, we identified a new pheromone-binding protein in this species, four candidate pheromone receptors and 12 carboxylesterases as candidate acetate degrading enzymes. In addition, we identified enzymes putatively involved in *S. nonagrioides* pheromone biosynthesis, including a $\Delta 11$ -desaturase and different acetyltransferases and reductases. RNAseq analyses and RT-PCR were combined to profile gene expression in different tissues. This study constitutes the first large scale description of chemosensory genes in *S. nonagrioides*.

Key words: chemosensory receptors, pheromone biosynthesis, transcriptome, next-generation sequencing, *Sesamia nonagrioides*.

Introduction

The stemborer *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lepidoptera: Noctuidae) is a polyphagous species with a fairly wide range of host plants. It is an important pest of maize in the Mediterranean Basin [1-3]. Pest management strategies are being devel-

oped against this species, including olfaction-mediated behaviour modification and the use of tachinids [4, 5]. A better knowledge of the molecular mechanisms of *S. nonagrioides* olfaction will contribute to the development of new tools for the control of this

species since inhibition/artificial activation of the proteins implicated in the olfactory process would lead to the disruption of its chemical communication.

The molecular mechanisms of olfaction in insects are complex and rely on the intervention of a diversity of proteins expressed in the chemosensory sensilla that cover the sensory organs. These sensilla house olfactory sensory neurons (OSNs) whose dendrites are bathed in the sensillum lymph. Secreted proteins are found in abundance in the lymph, notably the odorant-binding proteins (OBPs) and the chemosensory proteins (CSPs). These soluble proteins are proposed to bind odorant molecules and to transport them to membrane bound receptors [6, 7]. Within moth OBPs, the pheromone-binding proteins (PBP) are proposed to be specialized in binding pheromone components [8]. Although the role of OBPs and especially PBPs in olfaction is now well admitted, the exact function of CSPs remains unclear. Two families of volatile molecule receptors have been described in insects, the olfactory receptors (ORs) and the ionotropic receptors (IRs), these two types being involved in the recognition of different volatile families as demonstrated in *Drosophila melanogaster* [9]. Most OSNs express OR proteins, which have seven transmembrane domains with an inverted topology compared to vertebrate ORs: their N-terminus is located inside the cell [10]. A co-receptor highly conserved among species, named Orco [10-12], is required to form with ORs a complex proposed to function as an ion channel and which makes possible the detection of volatile compounds [13, 14]. A subset of OSNs expresses IRs, which may have evolved from ionotropic glutamate receptors to gain chemosensory function [15, 16]. Like ORs, IRs couple with obligate co-receptors that are highly conserved among insects [17]. Other protein families have been described in insect antennae, such as the sensory neuron membrane proteins (SNMP). One of these SNMPs, SNMP1, is located in the dendritic membrane of pheromone-specific OSNs and is thought to trigger ligand delivery to the receptor [18, 19]. Numerous enzymes are also found in antennae. Depending on their catalytic activities, they have been proposed to be involved in xenobiotic degradation and/or olfactory signal termination, via transformation of the odorant molecules [6].

Despite the economical importance of *S. nonagrioides*, only fragmentary information is available on the molecular actors used by this species for odorant detection. Only two PBPs and two other OBPs have been described by molecular cloning and proteomic analyses [20-22], one candidate pheromone-degrading esterase has been cloned [23] and no candidate ORs have been identified.

In this study, we applied a transcriptomic approach to identify a large array of candidate chemosensory genes in *S. nonagrioides*. Such transcriptomic approaches have been proven to be efficient in identifying large repertoires of chemosensory genes in insect species for which the genome is not sequenced, for example in the Lepidoptera *Spodoptera littoralis* [24, 25], *Manduca sexta* [26], *Cydia Pomonella* [27] and *Helicoverpa armigera* [28]. In particular, such approaches appeared to be efficient for the identification of candidate ORs. Indeed, the low level of sequence identity (20-40%) of ORs within insects precluded most attempts to identify new ORs by homology cloning, except for Orco [29] and for more conserved receptors involved in pheromone detection – the so-called pheromone receptors (PRs) [30-32]. Here, using next-generation sequencing technologies (NGS), we characterized transcripts produced in various tissues of *S. nonagrioides*, including the chemosensory organs of larvae and adults, and female ovipositors, these last being known to express some chemosensory genes [33]. Among the transcripts, we identified genes encoding binding proteins (OBPs & CSPs) and chemosensory receptors (IRs & ORs). Carboxylesterases were also annotated as candidate pheromone-degrading enzymes (PDEs) since the *S. nonagrioides* pheromone contains acetates [34, 35]. Focusing on the pheromonal detection system, we not only identified an additional pheromone-binding protein, but we also report the identification of four candidate pheromone receptors and two SNMPs. In addition, the inclusion of RNAs from female ovipositors that contain the pheromone glands allowed us to annotate candidate enzymes involved in pheromone biosynthesis, such as desaturases, acetyltransferases and reductases.

Materials and Methods

Insect rearing, tissue preparation, 454 and Illumina sequencing

S. nonagrioides were reared in the laboratory on a modified artificial diet from Poitou & Bues [36], containing agar, maize flour, wheat germ, dried yeast and a mixture of vitamins and antibiotics. The insects were kept in a controlled chamber at $24.4 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$, $54.4 \pm 5.8\%$ r.h. (means $\pm$ SD) and an L16:D8 reversed photoperiod. For transcriptome sequencing, antennae were dissected from 1-day-old adults (males and females) and antennae and maxillary palps were dissected from 4th instar larvae. Other tissues (adult brains and female ovipositors) were also prepared from the same animals to enrich the *S. nonagrioides* transcriptome. All dissected organs were immediately frozen in liquid nitrogen, and stored at -80°C until

extraction. Total RNAs were extracted from each tissue using TRIzol® Reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). RNA integrity was verified by gel electrophoresis and RNA quantity was determined on a NanoDrop ND-1000 spectrophotometer (NanoDrop Technologies Inc., Wilmington, DE, USA). A pool of RNAs from each tissue (1 µg each) was used as a template for cDNA synthesis and 454 sequencing (454 Roche GS FLX Titanium, ½ Pico Titer Plate GATC Biotech SARL, Mulhouse, France). In parallel, RNAs from larvae antennae and palps, female ovipositors and female antennae were independently used as templates for Illumina sequencing (one channel for the two adult samples, one channel for the larvae sample, single read 51 pb length, HighSeq2000; GATC Biotech). All the data generated in this project have been deposited in LepidoDB (http://www.inra.fr/lepidoDB/sesamia_nonagrioides), a centralized bioinformatic resource for the genomics of lepidopteran pests [37]. As a result, from the project page http://www.inra.fr/lepidoDB/sesamia_nonagrioides, one can retrieve the whole sequence set.

Sequence processing and assembly

454 and Illumina data were processed by removing adapters and by trimming low quality regions. Data were first analyzed with FastQC v. 0.10.0 (www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc) that provided information on sequence quality and identified over-represented sequences within libraries. Over-represented sequences and low quality regions were removed with, respectively, Cutadapt [38] and PRINSEQ v 0.17.3. [39]. Sequences shorter than 20 bp long were also removed from all data sets. A first step of *de novo* assembly was performed on the Illumina reads with Trinity assembler (release 2012-01-25 [40]). Then, the processed sequences from 454 sequencing were added to the Trinity contig set and used as input in MIRA assembler v 3.2.1. using as parameters *de novo* assembly method, est assembly type, accurate quality, Sanger sequencing technology [41].

Transcriptome analyses and gene annotation

The contigs were compared to the NCBI non redundant protein database (NR, version January 20th 2013) using BLASTX, with a $1e^{-8}$ value threshold. BLAST2GO was used for the Gene Ontology (GO) annotation (GO association done by a BLAST against the NCBI NR database) [42]. Contigs were translated to peptides using FrameDP 1.2.0 [43] with three training iterations and using Swissprot (398.181, August 2009) as the reference protein database. GO annotation was then completed with Interproscan annotation of translated peptides. Olfactory gene tran-

scripts were searched within the assembly with available lepidopteran OBP, CSP, OR, IR and SNMP amino acid sequences (see Phylogenetic analyses) as queries using TBLASTN. Enzyme-encoding genes were searched using carboxylesterase sequences (for candidate pheromone-degrading enzymes) and desaturase/acetyltransferase/reductase sequences (for pheromone biosynthesis enzymes) from Lepidoptera [44, 45]. The sequences that matched with the queries were further assembled using Cap3 [46], when possible, to obtain longer contigs. Resulting sequences were reversely compared to NCBI NR database using the BLASTX application to confirm annotation and their translation was manually verified or corrected. OBPs, CSPs and esterases were searched for the presence of a signal peptide using SignalP 4.0 [47], secondary structures were predicted using the PsiPred server [48], and logos were generated using WebLogo [49]. Transmembrane domains of candidate ORs were predicted using the HMMTOP 2.0 [50].

Phylogenetic analyses

In addition to the 13 candidate *S. nonagrioides* OR sequences (SnonORs), the OR data set contained amino acid sequences from the moths *Bombyx mori* [51], *Heliothis virescens* [52, 53], *S. littoralis* [24, 25, 54] and *M. sexta* [26], and also from the butterflies *Danaus plexippus* [55] and *Heliconius melpomene* [56]. In total, the data set contained 248 sequences (343 amino acid positions for each). Only complete or nearly complete sequences were included in this data set, except some SnonOR sequences that were short but kept, which may affect the accuracy of the phylogenetic analysis. The OBP data set contained 12 amino acid sequences from *S. nonagrioides*, together with sequences from *S. littoralis* [24, 25, 54], *B. mori* [57], *H. melpomene* [56], *H. virescens* [45, 58, 59] and *M. sexta* [26, 60]. Signal peptide sequences were removed from the data set, which contained 182 sequences (256 amino acid positions for each). The CSP data set contained 19 sequences from *S. nonagrioides* and sequences from *S. littoralis* [24, 25, 54], *B. mori* [61], *H. melpomene* [56], *H. virescens* [62] and *Papilio xuthus* [63]. As for OBPs, signal peptide sequences were removed. The data set contained 124 sequences (103 amino acid positions for each). In the IR dataset, 10 *S. nonagrioides* candidate IR sequences were added to sequences identified in *S. littoralis* [54, 64], *B. mori* [16], and *D. plexippus* [55]. Since IRs are well conserved in insects, IR sequences from non-Lepidoptera species (*D. melanogaster*, *Apis mellifera* and *Tribolium castaneum* [16]) were also included in the data set. In addition, *D. melanogaster* iGluR sequences were included, and the final data set contained 179 sequences (618 amino acid positions for each). Amino acid sequences were aligned with

MAFFT v.6 [65] using the FFT-NS-2 algorithm and default parameters, except for the OR sequences that were aligned using MUSCLE [66] as implemented in Seaview v.4 [67]. The alignments were manually curated to remove highly divergent regions. Phylogenetic reconstructions were carried out using maximum likelihood. For each data set, the LG+I+G substitution model [68] was determined as the best-fit model of protein evolution by ProtTest 1.3 [69] following Akaike information criterion. Rate heterogeneity was set at four categories, and the gamma distribution parameter and the proportion of invariable sites were estimated from the data set. Tree reconstruction was performed using PhyML 3.0 [70], with both SPR (Subtree Pruning and Regrafting) and NNI (Nearest Neighbour Interchange) methods for tree topology improvement. Branch support was estimated by approximate likelihood-ratio test (aLRT) [71]. We considered a branch was supported when the aLRT value was >0.95. Images were created using the iTOL web server [72].

Read mapping

All candidate chemosensory genes as well as the genes encoding candidate enzymes were used to perform unique read mapping of each Illumina library (female ovipositors, female antennae, larval palps and antennae). Each of the 85 individual gene mapping alignments was inspected for uniquely mapped reads. Read counts were normalized between libraries according to the size of the library with the DESeq package [73] implemented in R [74].

RT-PCR

Male and female antennae were dissected from 1–3 day-old adults and total RNAs were extracted from both tissues using TRIzol® Reagent (Invitrogen). After a DNase I treatment (Promega, Madison, WI, USA), RNAs (0.5 to 1 µg) were used as templates for single stranded cDNA synthesis using the Advantage RT-for-PCR kit (Clontech, Mountain View, USA). PCRs were performed on the two tissues under the following conditions: 94 °C for 1 min, 35 cycles of (94 °C for 30 s, 57–67 °C - depending on primer pairs - for 30 s, 72 °C for 3 min) and 72 °C for 10 min as a final extension step, using Titanium Taq DNA polymerase (Clontech) and with specific primer pairs designed for the *S. nonagrioides* ORs (Table 1) using the Primer3+ software (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>). For each tissue, the ribosomal protein L8 gene (*rpL8*) was used as a positive control. Negative controls consisted of amplifications run on DNase-treated RNAs and water templates. The amplification products were loaded on 1.5% agarose gels and visualized using ethidium

bromide. For each gene, at least one amplification product was verified by DNA sequencing (Biofidal, Vaulx-en-Verin, France) after gel extraction (Qiagen, Hilden, Germany).

Results and discussion

S. nonagrioides reference transcriptome and annotation

We generated a *de novo* transcriptome of *S. nonagrioides* using transcriptomic data sets obtained from 454 and Illumina sequencing. These sequencing platforms were combined since they lead to substantial differences in read length and they are supposed to recover different sequence types from a sample, thus we expected their combination to enhance the quality of the final assembly. In addition, the availability of Illumina libraries from isolated organs allows performing read mapping for expression studies. The 454 data set (995,424 processed sequences) was obtained from adult (male and female) and larvae antennae, larvae palps, adult brains and female ovipositors (1,004,420 raw reads) (Table 2). The Illumina data sets were obtained from female antennae (53,623,491 processed sequences), female ovipositors (71,544,332 processed sequences) and pooled larvae antennae and palps (190,673,453 processed sequences) (Table 2). We focused the Illumina sequencing on adult female and larval tissues to highlight genes putatively involved in host plant sensing, since male behaviors are mainly driven by the sex pheromone. The Illumina reads were assembled using Trinity, which generated a first assembly into 85,833 contigs. Then, the 995,424 processed sequences from 454 sequencing were added to the Trinity contigs to generate, using MIRA, a final assembly of 51,999 contigs (length from 40 to 29,697 bp, N50 : 1,741bp) which forms the final transcriptome of *S. nonagrioides* (Table 2). It has to be noticed that these contigs do not represent unigenes, since their assembly include possible splice variants, polymorphism or reverse transcriptase errors. Among these 51,999 contigs, a coding region could be predicted for 22,153 sequences (42.6%), and 16,280 predicted proteins (73.5%) translated from these regions showed similarity to known proteins when compared to the non-redundant protein database. Figure 1 represents the distribution of the *S. nonagrioides* contigs in GO terms. Among the 51,999 contigs, 11,369 (21.8%) corresponded to at least one GO term. As observed in other lepidopteran transcriptomes [25, 26], a large number of transcripts could not be associated with a GO term (78.2%). Among those associated to a GO-term, 9,961 were assigned to a molecular function (87.6%), 6,635 to a putative biological process (58.4%) and 4,836 to a cellular component (42.5%) (Figure 1).

In the molecular function category, the terms “binding” and “catalytic activity” were the most represented (respectively 62.3% and 35.5%), as previously observed in the transcriptomes of *S. littoralis* [25] and *M. sexta* [26]. In the biological process category, the

terms “metabolic process” and “cellular process” were the most represented (35.2 % and 40.9 % respectively). In the cellular component category, the terms “cell” and “membrane” were the most represented (39.7 % and 19.2 % respectively).

Table 1: Primer pairs used in RT-PCR experiments, annealing temperature (T°), and amplification product sizes.

Name	Forward primer	Reverse primer	T°	Size
SnonOrco	CATCACCGTGCTCTTCTCA	GATGCTGCAGCTGTTACAT	60	467
SnonOR6	CTTACGTTTCACGCTGGTCA	TCGAGTTTGGAGACCATCC	60	479
SnonOR10	GGCCACATCCGAATAACTAC	GCTGATGTAGATGCTGACCA	67	485
SnonOR14	TCCTGTGTTTCGACGACTTTCT	CGTAAACGGCATCCTTCAAT	60	471
SnonOR15	TTATTTCAGCCGGGAAGTACG	CGTCGTCATTTGTGAGCACT	64	496
SnonOR16	ATATGGGCACGTTGAAGGAG	CAATCGCTTGATGGTGTGTTG	60	484
SnonOR17	CTGGTACCCCTTCGACAAGA	TCCCATTTGTGCACTCAAAAAA	62	466
SnonOR22	CCACAGTTGCGGATTTTCT	AATGGTCGCTTGGTGTCTC	60	473
SnonOR33	CAAGCTTTCAGGAGATTCG	GGAATCCACCAGATGAAGA	60	484
SnonOR45	TCTACTGTGCAACGGAACCA	AGACGCGTATTCTCGACCAA	60	461

Table 2: Summary of data used for transcriptome assembly.

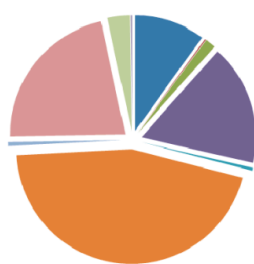
Sequencing technology	454 sequencing	Illumina sequencing		
Tissues	Male and female antennae, adult and larval brains, female ovipositors, larval antennae and plaps	Larvae antennae and palps	Female antennae	Female ovipositors
Raw sequence number	1,004,420	190,697,894	81,527,205	114,270,344
Processed sequence number	995,424	190,673,453	53,623,491	71,544,332
Assembly	51,999 contigs (N50: 1,741 bp)			

Molecular function



- nutrient reservoir activity (23)
- catalytic activity (4,037)
- structural molecule activity (581)
- transporter activity (939)
- electron carrier activity (562)
- channel regulator activity (61)
- enzyme regulator activity (238)
- nucleic acid binding transcription factor activity (186)
- protein binding transcription factor activity (38)
- antioxidant activity (12)
- molecular transducer activity (368)
- receptor activity (320)
- binding (7,080)

Cellular component



- macromolecular complex (997)
- virion (15)
- membrane-enclosed lumen (148)
- organelle (1,697)
- cell junction (42)
- cell (4,512)
- synapse (55)
- membrane (2,186)
- extracellular region (314)
- extracellular matrix (26)

Biological process



- developmental process (154)
- signaling (555)
- biological regulation (1,007)
- metabolic process (4,575)
- response to stimulus (927)
- localization (1,352)
- cellular process (4,645)
- cellular component organization or biogenesis (352)
- multicellular organismal process (219)

Figure 1. Distribution of *S. nonagrioides* contigs annotated at GO level 2.

Identification of putative *S. nonagrioides* odorant-binding proteins and chemosensory proteins

A total of 12 candidate OBPs and 19 candidate CSPs could be deduced from the analysis of the *S. nonagrioides* transcriptome. They are further referred to as SnonOBPs and SnonCSPs (Table 3, fasta format file in Supplementary material S1). Almost all the full-length predicted proteins have the characteristic hallmarks of the OBP and CSP protein families: the presence of a signal peptide and the highly conserved six (OBPs) and four (CSPs) cysteine profiles (Table 3, Figure 2). In Lepidoptera, the OBP family is characterized by the presence of three PBP lineages and two general odorant-binding protein (GOBP) lineages, GOBPs being proposed to bind “general” odours, such as plant odours [8]. Among the *S. nonagrioides* OBPs, we found the two previously cloned SnonPBP1 and SnonPBP2 [20] and we identified a third candidate PBP, named SnonPBP3, that clustered in the third lepidopteran PBP lineage (Figure 3). We also re-identified the previously described GOBP2 [21] and could extend the partial SnonGOBP1 sequence previously identified by proteomics [22]. Each of these SnonGOBPs clustered in one of the two lepidopteran GOBP lineages (Figure 3). Both GOBPs exhibited the highest numbers of mapped female antennal reads (Table 4), suggesting they are the most abundantly expressed OBPs in female antennae. They may thus be essential for female olfactory behaviours. In correlation with their cysteine number, some of the SnonOBPs clustered in the “minus-C” sub-family whereas no SnonOBP could be identified in the “plus-C” OBP sub-family (Figure 3). Some of the sequences were incomplete at their 5' ends and the corresponding proteins missed the signal peptide (Table 3). Although we likely identified the complete reper-

toires of PBPs and GOBPs in *S. nonagrioides*, the number of SnonOBPs is low compared to what has been identified in other species via genome or transcriptome analyses and additional sequencing would be needed to obtain the complete repertoire. For instance, 36 and 18 candidate OBPs have been identified in the *S. littoralis* [25, 54] and the *M. sexta* transcriptomes [26], respectively, and 44 OBPs were annotated in the genome of *B. mori* [57]. The 19 CSPs identified in this study may represent the nearly complete set of *S. nonagrioides* CSPs. For comparison, 18 putative CSPs have been annotated in *B. mori* [61], 21 in *S. littoralis* [25, 54] and 21 in *M. sexta* [26] (Phylogenetic analysis visible in Supporting information S2). These data confirm that Lepidoptera express a higher number of CSPs than other insect orders, such as Diptera [75]. The OBP and CSP transcripts showed diverse expression patterns, as revealed by Illumina read mapping (Table 4). The CSP family groups soluble proteins expressed in a diversity of tissues and whose function is unclear [7]. Here, the investigation of only a limited number of tissues does not allow us to propose possible functions for CSPs. However, one can note that a CSP, SnonCSP11, was highly expressed in the larval chemosensory organs and that some CSPs were clearly expressed in the ovipositors, as previously reported in another noctuid [76] (Table 4). More interesting features could be noticed for OBPs. Most of them, including the two GOBPs and the three PBPs, were observed to be highly expressed in female antennae. Some of them were also highly expressed in the larval chemosensory organs (Table 4), some others were not, and it could be speculated that these latter participate in adult specific behaviors. Interestingly, four OBPs were clearly expressed in the female ovipositors and 32 reads from the ovipositor library could be mapped on one PBP (Table 4).

Table 3: List of *S. nonagrioides* contigs putatively involved in odorant binding. Signal peptides were determined using SignalP 4.0 [47] and α -helice structures were predicted using the Pspred server [48].

Name	Length (amino acids)	Peptide signal	α -helice nb	C nb	BlastP hit	e-value
SnonGOBP1	163	yes	9	7	gb ABI24159.1 general odorant binding protein 1, partial [Agrotis segetum]	1e-94
SnonGOBP2	162	yes	8	6	gb AFM36760.1 general odorant-binding protein 2 [Agrotis ipsilon]	2e-106
SnonOBP1	145	yes	7	4	gb AEB54592.1 OBP9 [Helicoverpa armigera]	9e-36
SnonOBP2	139	yes	7	6	gb AEB54589.1 OBP8 [Helicoverpa armigera]	6e-69
SnonOBP3	139	yes	7	4	gb ACX53795.1 odorant binding protein [Heliothis virescens]	3e-53
SnonOBP4	133	yes	7	4	gb AFI57166.1 odorant-binding protein 17 [Helicoverpa armigera]	6e-80
SnonOBP5	147	yes	7	6	gb AAL66739.1 AF461143_1 pheromone binding protein 4 [Mamestra brassicae]	6e-81
SnonOBP6	150	yes	7	5	gb AEB54581.1 OBP5 [Helicoverpa armigera]	8e-55
SnonOBP7	141	yes	7	7	gb AFD34173.1 odorant binding protein 5 [Argyresthia conjugella]	9e-62
SnonPBP1	165	yes	8	6	gb AAS49922.1 pheromone binding protein 1 precursor [Sesamia nonagrioides]	3e-117

SnonPBP2	170	yes	8	6	gb AAS49923.1 pheromone binding protein 2 precursor [Sesamia nonagrioides]	1e-116
SnonPBP3	164	yes	8	6	gb AEQ30020.1 pheromone binding protein 3 [Sesamia inferens]	1e-112
SnonCSP1	128	yes	7	5	gb ACX53804.1 chemosensory protein [Heliothis virescens]	2e-63
SnonCSP2	120	yes	7	4	gb ACX53800.1 chemosensory protein [Heliothis virescens]	1e-59
SnonCSP3	122	yes	7	4	gb AFR92094.1 chemosensory protein 10 [Helicoverpa armigera]	3e-76
SnonCSP4	146	yes	8	4	gb ABM67686.1 chemosensory protein CSP1 [Plutella xylostella]	2e-51
SnonCSP5	127	yes	7	4	gb ABM67688.1 chemosensory protein CSP1 [Spodoptera exigua]	9e-69
SnonCSP6	123	yes	7	4	gb ACX53806.1 chemosensory protein [Heliothis virescens]	2e-66
SnonCSP7	121	yes	6	5	gb EHJ67380.1 chemosensory protein [Danaus plexippus]	3e-48
SnonCSP8	128	yes	7	4	gb AAF71290.2 AF255919_1 chemosensory protein [Mamestra brassicae]	1e-72
SnonCSP9	124	yes	7	4	gb ABM92663.1 chemosensory protein CSP3 [Plutella xylostella]	8e-46
SnonCSP10	235	no	6	4	emb CAJ01506.1 hypothetical protein [Manduca sexta]	1e-69
SnonCSP11	125	yes	7	4	ref NP_001037066.1 chemosensory protein precursor [Bombyx mori]	7e-38
SnonCSP12	120	yes	7	4	gb ACX53817.1 chemosensory protein [Heliothis virescens]	6e-45
SnonCSP13	122	yes	7	4	gb AEX07267.1 CSP6 [Helicoverpa armigera]	4e-71
SnonCSP14	127	yes	7	4	gb AAM77040.1 chemosensory protein 2 [Heliothis virescens]	1e-69
SnonCSP15	131	no	7	5	ref NP_001091781.1 chemosensory protein 15 [Bombyx mori]	4e-41
SnonCSP16	81	no	5	4	gb EHJ67380.1 chemosensory protein [Danaus plexippus]	5e-39
SnonCSP17	123	yes	7	4	dbj BAM20381.1 unknown secreted protein [Papilio polytes]	5e-59
SnonCSP18	122	yes	7	4	dbj BAG71920.1 chemosensory protein 12 [Papilio xuthus]	7e-38
SnonCSP19	124	yes	7	4	dbj BAF91716.1 chemosensory protein [Papilio xuthus]	2e-50

Table 4: Comparison of chemosensory gene expression in different tissues (female antennae, larval antennae and palps, female ovipositors) as revealed by Illumina read mapping. In each box, the number of uniquely mapped reads is indicated (read counts were normalized between libraries according to the size of the library with the DESeq package [75]). Color scales were established for each gene family using the conditional formatting option in Excel (dark red: max. value, blue: min. value).

	Female antennae	Larval antennae and palps	Female ovipositors		Female antennae	Larval antennae and palps	Female ovipositors		Female antennae	Larval antennae and palps	Female ovipositors
<i>SnonORco</i>	5280	166	602	<i>SnonGOBP2</i>	20961	119	25	<i>SnonCXE16</i>	3667	926	1589
<i>SnonOR33</i>	2956	2	8	<i>SnonGOBP1</i>	17593	1	18	<i>SnonCXE5</i>	2626	555	5630
<i>SnonOR12</i>	1708	28	15	<i>SnonOBP5</i>	7938	4388	1964	<i>SnonCXE13</i>	1954	452	2634
<i>SnonOR45</i>	1185	18	2	<i>SnonPBP3</i>	7912	1	32	<i>SnonCXE14</i>	1047	1556	462
<i>SnonOBP29</i>	386	14	7	<i>SnonOBP1</i>	5370	796	175	<i>SnonCXE17</i>	549	238	30
<i>SnonOR10</i>	346	116	60	<i>SnonOBP4</i>	5195	154	79	<i>SnonCXE19</i>	363	169	40
<i>SnonOR22</i>	343	0	0	<i>SnonPBP2</i>	3760	1	1	<i>SnonCXE2</i>	353	883	1012
<i>SnonOR17</i>	209	3	1	<i>SnonPBP1</i>	3191	1	3	<i>SnonCXE09</i>	305	420	210
<i>SnonOR16</i>	208	1	1	<i>SnonOBP2</i>	2081	0	2	<i>SnonCXE11</i>	201	917	255
<i>SnonOR8</i>	204	1	0	<i>SnonOBP7</i>	840	0	0	<i>SnonCXE1</i>	133	774	209
<i>SnonOR14</i>	137	12	2	<i>SnonOBP3</i>	43	6538	1654	<i>SnonCXE4</i>	126	93	215
<i>SnonOR6</i>	135	0	3	<i>SnonOBP6</i>	0	7	0	<i>SnonCXE3</i>	37	51	42
<i>SnonOR15</i>	5	4	1	<i>SnonCSP10</i>	2521	644	2087	<i>Snon_fatty-acylCoA reductase 2</i>	4573	4170	111
<i>SnonIR25a</i>	3877	228	300	<i>SnonCSP9</i>	1900	3843	3214	<i>Snon_fatty acid synthase</i>	2673	2035	2516
<i>SnonIR8a</i>	3632	141	350	<i>SnonCSP14</i>	1496	11	451	<i>SnonAcyl-CoA delta9 desaturase</i>	2158	7492	1576
<i>SnonIR21a</i>	1086	36	4	<i>SnonCSP1</i>	1127	580	2170	<i>Snon_fatty-acylCoA reductase 4</i>	1193	69	3156
<i>SnonIR75q</i>	959	4	11	<i>SnonCSP4</i>	1038	0	1	<i>Snon_N-acetyltransferase</i>	598	940	1486
<i>SnonIR75p</i>	528	10	8	<i>SnonCSP2</i>	641	53	40	<i>Snon_desaturase</i>	441	450	1627
<i>SnonIR76b</i>	397	23	6	<i>SnonCSP6</i>	537	169	9	<i>Snon_fatty-acylCoA reductase 6</i>	283	496	889
<i>SnonIR41a</i>	267	6	6	<i>SnonCSP3</i>	354	1387	91	<i>Snon_acyl-CoA delta-9 desaturase</i>	197	99	77
<i>SnonIR1</i>	135	0	0	<i>SnonCSP7</i>	295	789	366	<i>Snon_fatty-acylCoA reductase 1</i>	175	7	7
<i>SnonIR93a</i>	100	10	8	<i>SnonCSP8</i>	144	125	179	<i>Snon_acetyltransferase 1</i>	158	569	133
<i>SnonIR2</i>	22	136	1142	<i>SnonCSP17</i>	39	217	46	<i>Snon_putative acetyltransferase</i>	122	164	153
<i>SnonSNMP1</i>	5562	46	19	<i>SnonCSP19</i>	24	22	771	<i>Snon_fatty-acylCoA reductase 3</i>	20	135	54
<i>SnonSNMP2</i>	2839	225	645	<i>SnonCSP16</i>	15	123	9	<i>SnonAcyl-CoA delta11 desaturase</i>	15	21	14496
				<i>SnonCSP13</i>	9	0	0	<i>Snon_fatty-acylCoA reductase b</i>	9	129	567
				<i>SnonCSP11</i>	0	7741	0	<i>Snon_N-acetyltransferase 3</i>	8	11	14
				<i>SnonCSP15</i>	0	117	0	<i>Snon_fatty-acylCoA reductase 5</i>	6	236	1
				<i>SnonCSP18</i>	0	117	0	<i>Snon_fatty-acylCoA reductase II</i>	4	121	3
				<i>SnonCSP5</i>	0	0	0				
				<i>SnonCSP12</i>	0	2	0				

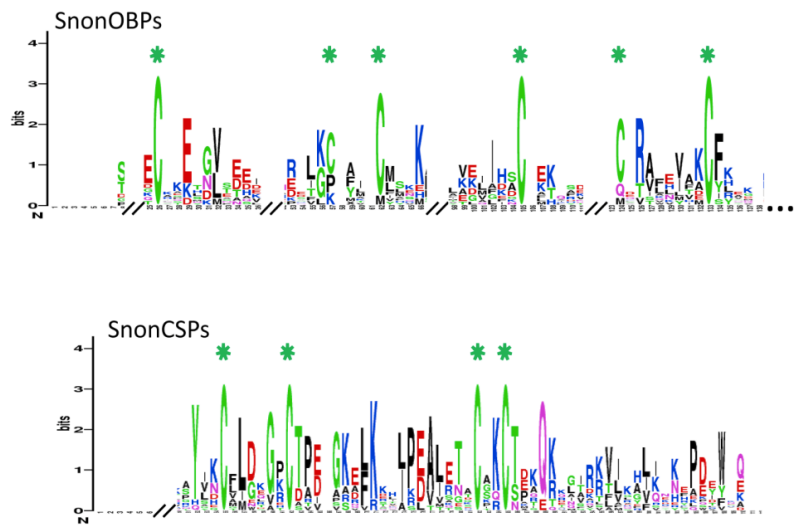


Figure 2. SnonOBP and CSP sequence logos. Degree of amino acid sequence conservation [49] along the primary sequence axis of odorant-binding proteins (OBPs) and the chemosensory proteins (CSPs) of *S. nonagrioides*. Depicted amino acid character size correlates to relative conservation across aligned sequences. Green asterisks indicate the conserved six and four cysteine motifs of OBPs and CSPs, respectively.

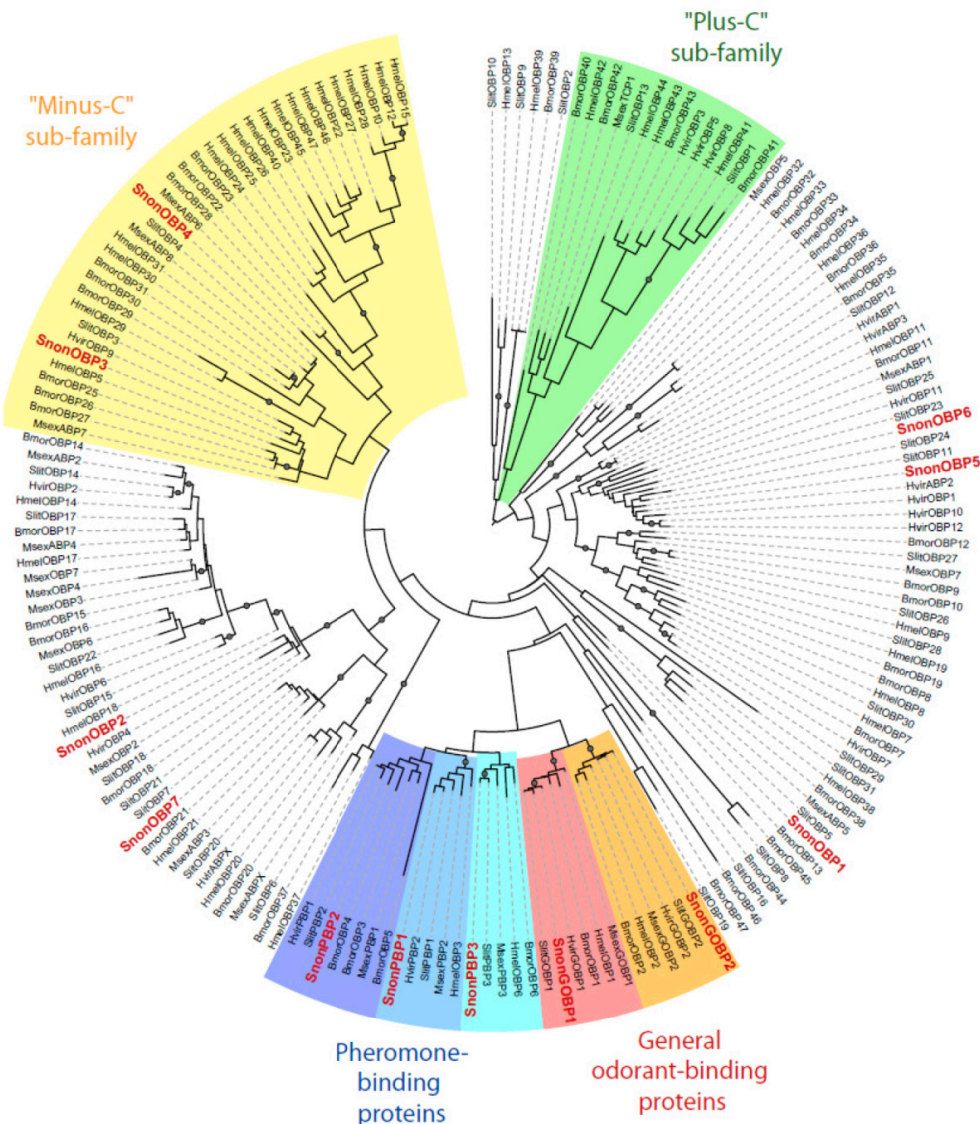


Figure 3. Maximum likelihood tree of candidate odorant-binding proteins (OBPs) from *S. nonagrioides* and other Lepidoptera. Sequences used were from *B. mori* [57], *S. littoralis* [24, 25, 54], *H. melpomene* [56], *H. virescens* [45, 58, 59] and *M. sexta* [26, 60]. Signal peptide sequences were removed from the data set. Branch support was estimated by approximate likelihood-ratio test (aLRT) (circles: >0.95) [71]. Images were created using the iTOL web server [85]. The SnonOBPs identified in this study are in red.

Identification of putative *S. nonagrioides* chemosensory membrane proteins

A total of 13 putative OR-encoding genes, named SnonORs, were identified in the *S. nonagrioides* transcriptome (Table 5, fasta format file in Supplementary material S1). For convenience and when possible, these ORs were numbered according to their *S. littoralis* homologs found in the phylogenetic analyses (Figure 4). In other moths, 43 to 47 candidate ORs have been annotated via similar transcriptomic strategies in *S. littoralis* [25, 54], *M. sexta* [26] and *C. pomonella* [27], and 66 ORs were annotated in the genome of *B. mori*. By comparison, the number of SnonORs identified here is quite small. It is probable that the SnonORs are expressed at a very low level, which makes additional ORs difficult to identify. Seven sequences encoded complete proteins (SnonOrco, OR10, OR12, OR15, OR17, OR22, OR33) predicted to contain between 6 and 8 transmembrane domains, as usually observed for insect ORs [10]. Depending on the size of the fragments, the other SnonORs were predicted to contain between 3 and 6 transmembrane domains (Table 5). Among the SnonORs, we identified the *S. nonagrioides* Orco, and four SnonORs (OR6, OR14, OR15 and OR16) clustered in the sex pheromone receptor sub-family (Figure 4), a number that fits well with the number of components described in the *S. nonagrioides* sex pheromone blend: (Z)-11-hexadecenyl acetate (Z11-16:Ac) -the main component-, (Z)-11-hexadecen-1-ol (Z11-16:OH), (Z)-11-hexadecenal (Z11-16:Ald), and dodecyl acetate (12:Ac) [34, 35]. As revealed by Illumina read mapping analyses (Table 4), some SnonORs appeared to be expressed in both adult and larvae antennae. It was the case of SnonOrco, as previously observed in other noctuid species [29]. Some other SnonORs had a limited number of larval mapped reads, suggesting a role restricted to adult chemosensation. Interestingly, reads from the ovipositor library could be mapped on some of the SnonORs we identified, including Orco (Table 4). Expression of OBPs (see upper), ORs and Orco in this organ suggest that the ovipositors could detect volatile molecules, as suggested in *H. virescens* [33]. In this latter species, PBP and PR but not Orco expressions could be evidenced in the female ovipositors. Here, the presence of Orco suggests that the ORs are functional in these organs. In addition to read mapping, RT-PCR was performed on male and female antennae to reveal sex-biased ORs. Using RT-PCR, we were able to retrieve 10 OR transcripts (Figure 5), and three transcripts were not amplified in spite of numerous attempts. Seven SnonORs could be amplified in both male and female antennae, including three of the candidate PRs, and only one PR, SnonOR15, was male-specific (SnonOR15, Figure 5). Interestingly, *S.*

nonagrioides female antennae do not respond to the sex pheromone blend, as previously revealed by electroantennography [22]. Taken together, these observations either suggest that PRs alone may not be sufficient to trigger an electrical response to the pheromone, or that actual male-specific SnonPRs remain to be identified, apart SnonOR15. In *H. virescens*, PRs responding to Z11-16:Ald (HvirOR13), Z11-16:Ac (HvirOR14) and Z11-16:OH (HvirOR16) have been previously characterized [77, 78], these three components being also found in the *S. nonagrioides* sex pheromone blend. The SnonPRs presenting the higher percentage of identity with these HvirPRs were, respectively, SnonOR14 (46.3%), SnonOR15-14 (65.4%-63.3%) and SnonOR6-16 (64.6%-61.7%). Further functional studies would be required to verify whether these SnonORs recognize the same ligands as their *H. virescens* counterparts or not. One SnonOR (SnonOR17) appeared to be female-specific in the RT-PCR experiment (Figure 5). Female-specific and female-enriched ORs have been reported in diverse Lepidoptera species, as potentially involved female-specific behaviours (localization of oviposition sites, responses to the male pheromone [24, 79, 80]). However, this female-specific SnonOR is unrelated to these Lepidoptera ORs (for instance MsexOR3, BmorOR19 and SlitOR37 in Figure 4). Another SnonOR (SnonOR33) grouped in the clade of female-specific/female-enriched ORs, although it is expressed in both male and female antennae in the RT-PCR analysis (Figure 5). Interestingly, SnonOR33 exhibited the highest number of mapped female antennal reads (Table 4), suggesting that it is one of the most abundantly expressed ORs in female antennae. It may thus be essential for female-specific behaviours.

We identified 10 putative IRs, named SnonIRs, and 5 ionotropic glutamate receptors (iGluR) in the *S. nonagrioides* transcriptome (Table 5), based on the phylogenetic analysis (Figure 6). This analysis notably indicates that we identified the *S. nonagrioides* IR8a and IR25a, which are both supposed to encode co-receptors that couple with other IRs [17]. These two co-receptors were highly expressed in adult antennae, as expected for co-receptors, but were also found to be expressed in the larval chemosensory organs and the ovipositors (Table 4). We also identified members belonging to 5 of the 9 other conserved IR sub-families (highlighted in colors in Figure 6). No SnonIR candidate clustered in the divergent IR clade, whose members are not expressed in antennae and likely not involved in olfaction in *D. melanogaster* [16]. In agreement, most of the SnonIRs were highly expressed in adult (at least female) antennae, a limited number of which was also expressed in the larval

chemosensory organs (Table 4). One IR, SnonIR2, was highly expressed in the ovipositors. This IR appeared as atypical since it was expressed at a low level in antennae (Table 4) and was unrelated to previously described insect IRs (Figure 6). Its presence in the ovipositors together with the two co-receptors IR25a and IR8a suggests that it is functional and it may thus be used by the ovipositing females to select an adequate host plant. SnonIR1 appeared in a group that included only lepidopteran IR proteins (Figure 6), supporting our previous hypothesis of the occurrence of a lepidopteran specific IR sub-group [27, 64]. Among the tissues we sequenced, this IR was only

observed to be expressed in adult antennae.

In Lepidoptera, two SNMPs have been described. In accordance with their best hit, we annotated in the *S. nonagrioides* transcriptome two putative SNMPs, defined as SnonSNMP1 and SnonSNMP2. SNMPs were first identified in pheromone-sensitive neurons of Lepidoptera [81, 82] and are thought to play an important role in pheromone detection, as demonstrated for the *D. melanogaster* SNMP1 homolog [19]. Both were abundantly expressed in female antennae but reads were also detected from the other libraries, especially for SnonSNMP2 (Table 4).

Table 5: List of candidate *S. nonagrioides* ORs, IRs and ionotropic glutamate receptors. Transmembrane domains (Tm) were predicted using HMMTOP 2.0. [50].

Name	Length (amino acids)	Tm nb	Blast P hit	e-value
SnonOrco	474	7	dbj BAG71415.1 olfactory receptor-2 [Mythimna separata]	0
SnonOR6	345	6	emb CAG38117.1 putative chemosensory receptor 16 [Heliothis virescens]	5e-168
SnonOR8	231	3	emb CAD31949.1 putative chemosensory receptor 8 [Heliothis virescens]	8e-84
SnonOR10	390	7	emb CAG38111.1 putative chemosensory receptor 10 [Heliothis virescens]	0
SnonOR12	399	7	gb AFC91721.1 putative odorant receptor OR12 [Cydia pomonella]	0
SnonOR14	218	4	gb ACF32964.1 olfactory receptor 14 [Helicoverpa armigera]	1e-91
SnonOR15	442	8	dbj BAG71414.1 olfactory receptor-1 [Mythimna separata]	0
SnonOR16	107	3	emb CAG38117.1 putative chemosensory receptor 16 [Heliothis virescens]	8e-37
SnonOR17	411	5	gb AFC91725.1 putative odorant receptor OR17 [Cydia pomonella]	5e-84
SnonOR22	429	7	gb AFC91732.1 putative odorant receptor OR24 [Cydia pomonella]	2e-142
SnonOR29	374	6	ref NP_001166894.1 olfactory receptor 29 [Bombyx mori]	8e-161
SnonOR33	403	8	gb ADM32898.1 odorant receptor OR-5 [Manduca sexta]	6e-85
SnonOR45	304	5	ref NP_001166892.1 olfactory receptor 36 [Bombyx mori]	5e-115
SnonIR1	196	1	gb EHJ76709.1 ionotropic glutamate receptor-invertebrate [Danaus plexippus]	2e-36
SnonIR2	352	0	gb EHJ72235.1 hypothetical protein KGM_01297 [Danaus plexippus]	9e-145
SnonIR8a	192	1	gb AFC91764.1 putative ionotropic receptor IR8a, partial [Cydia pomonella]	2e-125
SnonIR21a	380	2	gb ADR64678.1 putative chemosensory ionotropic receptor IR21a [Spodoptera littoralis]	0
SnonIR25a	630	3	gb EHJ78658.1 hypothetical protein KGM_04141 [Danaus plexippus]	0
SnonIR41a	508	3	gb ADR64681.1 putative chemosensory ionotropic receptor IR41a [Spodoptera littoralis]	0
SnonIR75p	518	3	gb ADR64684.1 putative chemosensory ionotropic receptor IR75p [Spodoptera littoralis]	0
SnonIR75q	622	3	gb ADR64685.1 putative chemosensory ionotropic receptor IR75q.2 [Spodoptera littoralis]	0
SnonIR76b	340	3	gb ADR64687.1 putative chemosensory ionotropic receptor IR76b [Spodoptera littoralis]	0
SnonIR93a	389	7	gb EAT43564.1 AAEL005012-PA [Aedes aegypti]	8e-100
SnonGluR1	475	1	gb EHJ66743.1 hypothetical protein KGM_16050 [Danaus plexippus]	0
SnonGluR2	904	5	gb EHJ66742.1 hypothetical protein KGM_16053 [Danaus plexippus]	2e-169
SnonGluR3	434	5	ref XP_001655460.1 ionotropic glutamate receptor subunit 1a [Aedes aegypti]	0
SnonNmdaR1	465	0	gb EHJ78211.1 putative NMDA-type glutamate receptor 1 [Danaus plexippus]	0
SnonNmdaR2	485	6	gb EHJ66761.1 putative glutamate receptor, ionotropic, n-methyl d-aspartate epsilon [Danaus plexippus]	0

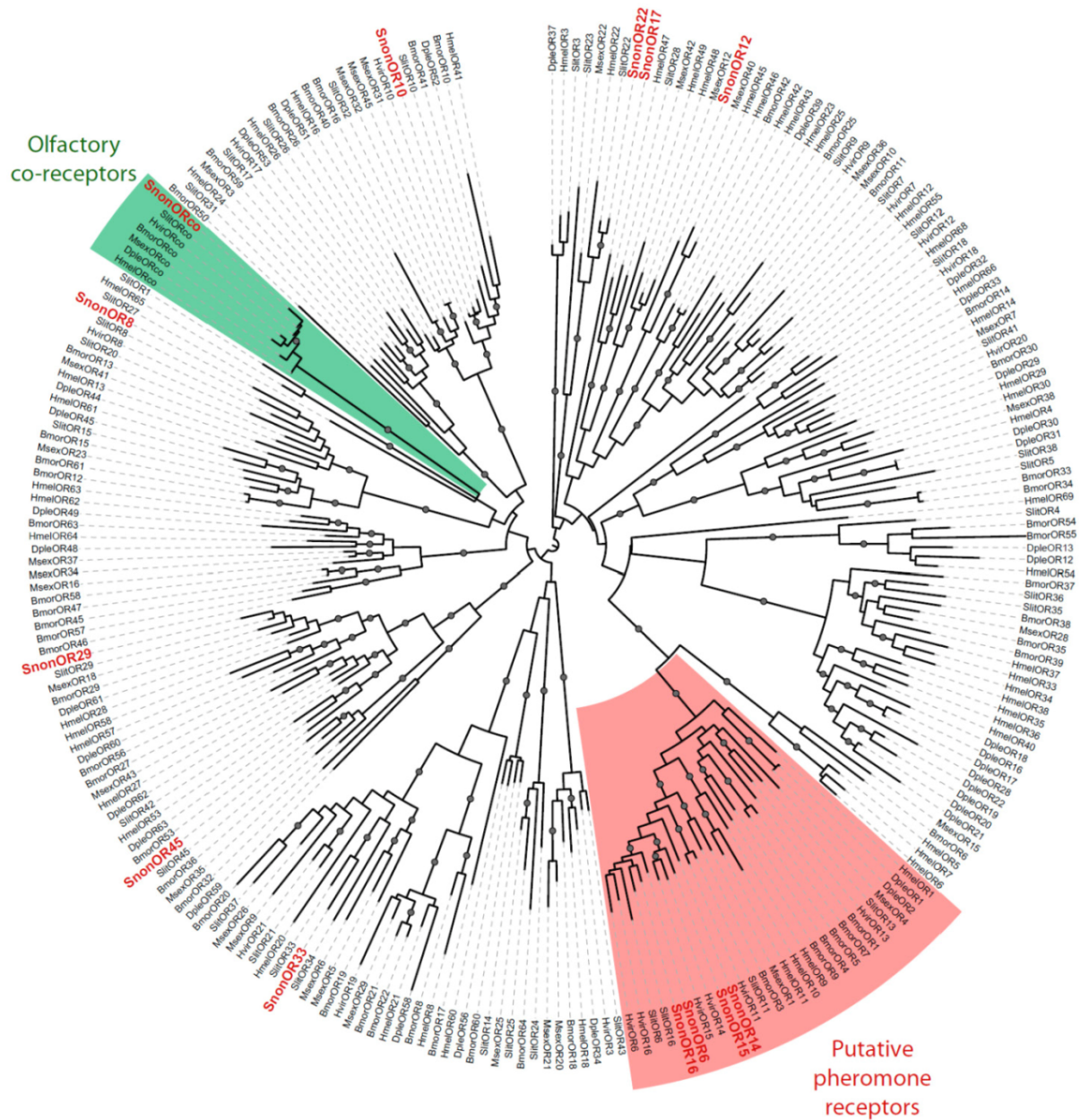
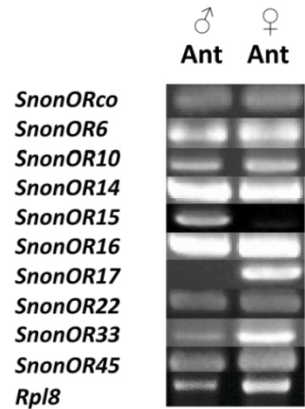


Figure 4. Maximum likelihood tree of candidate ORs from *S. nonagrioides* and other Lepidoptera. Sequences used were from *B. mori* [51], *S. littoralis* [24, 25, 54], *H. virescens* [52, 53], *M. sexta* [26], *D. plexippus* [55] and *H. melpomene* [56]. Branch support was estimated by approximate likelihood-ratio test (aLRT) (circles: >0.95) [71]. Images were created using the iTOL web server [85]. The SnonORs identified in this study are in red.

Figure 5. RT-PCRs of *S. nonagrioides* OR transcripts (*SnonORs*) in male and female antennae.



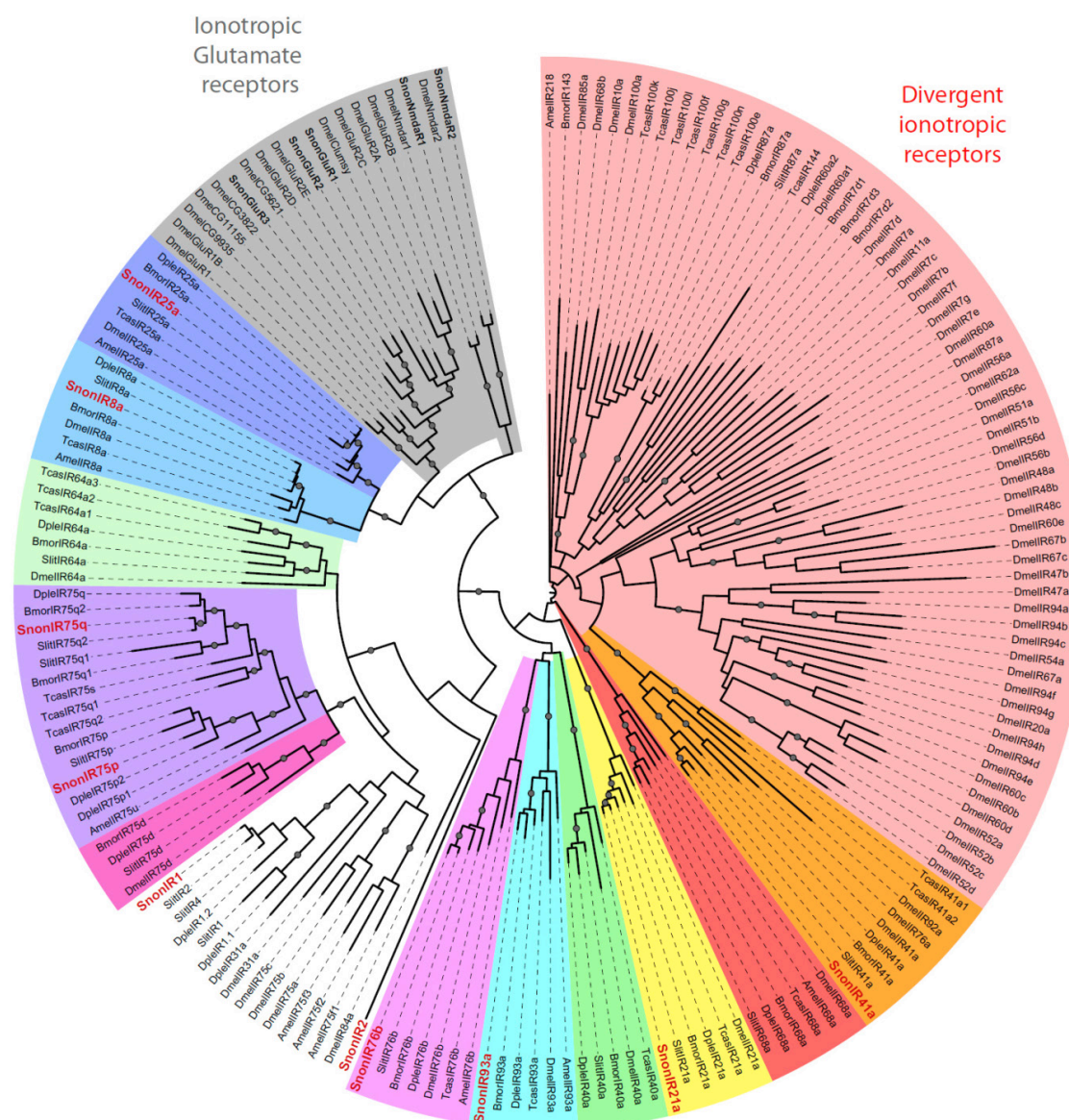


Figure 6. Maximum likelihood tree of candidate ionotropic receptors (IRs) from *S. nonagrioides* and other insects. Sequences used were from *B. mori* [16], *S. littoralis* [24, 25, 54], *D. plexippus* [55], *D. melanogaster*, *Apis mellifera* and *Tribolium castaneum* [16]. Branch support was estimated by approximate likelihood-ratio test (aLRT) (circles: >0.95) [71]. Images were created using the iTOL web server [85]. SlitIRs are in bold and the new SlitIRs identified in this study are in red.

Identification of candidate *S. nonagrioides* enzymes involved in pheromone clearance and biosynthesis

As demonstrated in the GO analysis (see above), the transcriptome appeared to be enriched in genes involved in catalytic activity and we thus particularly focused on candidate enzymes involved in pheromone clearance and pheromone biosynthesis. Twelve carboxylesterases could be annotated, as potentially involved in the degradation of acetate pheromone components within the sensillum lymph (Table 6).

Among these carboxylesterases, we could identify a previously cloned sequence [23] that we named SnonCXE1. The others were named according to their *S. littoralis* carboxylesterase best hit. All but two of the deduced SnonCXE proteins displayed the Ser-active site included in the conserved pentapeptide Gly-X-Ser-X-Gly common in enzymes of the α/β hydrolase family [83] (amino acid sequences available in Supplementary material S1) and eight sequences displayed a signal peptide. These SnonCXEs presented diverse expression patterns, some being highly expressed in female antennae, and one (SnonCXE5)

being highly expressed in the female ovipositor (Table 4). The contribution of esterases in the biosynthesis of pheromone components has not yet been reported. However, since the *S. nonagrioides* pheromone blend contains both an acetate (Z11-16:OAc) and its corresponding alcohol (Z11-16:OH), such enzymatic activities could participate in the generation of the alcohol component from its acetate precursor. Seventeen other enzymes putatively involved in pheromone biosynthesis were also annotated, among them a $\Delta 11$ -desaturase and different acetyltransferases and reductases (Table 6), that may be involved in the biosynthesis of Z11-16:Ac, the main component of *S.*

nonagrioides sex pheromone. Indeed, it has been previously demonstrated that Z11-16:Ac is biosynthesized from palmitic acid by $\Delta 11$ -desaturation followed by reduction and acetylation [84]. Reduction of the intermediate Z11-16:COOH has also been proposed to generate the minor component Z11-16:Ald [84]. Most of the transcripts were expressed in the female ovipositors and, noticeably, the $\Delta 11$ -desaturase transcript was highly expressed in this organ (Table 4), supporting its function in introducing the double bond in a specific position in the acid precursor of the *S. nonagrioides* pheromone components.

Table 6: List of *S. nonagrioides* contigs encoding enzymes putatively involved in pheromone degradation and pheromone biosynthesis. CXE: carboxylesterases.

Names	Length (amino acids)	BlastP hit	e-value
SnonCXE1	532	gb ABH01082.1 esterase [Sesamia nonagrioides]	0
SnonCXE2	465	gb AFO65061.1 esterase [Helicoverpa armigera]	0
SnonCXE3	177	gb ACV60230.1 antennal esterase CXE3 [Spodoptera littoralis]	2e-99
SnonCXE4	666	gb AAR26516.1 antennal esterase [Mamestra brassicae]	0
SnonCXE5	577	gb ADR64702.1 antennal esterase CXE5 [Spodoptera exigua]	0
SnonCXE9	555	gb ACV60236.1 antennal esterase CXE9 [Spodoptera littoralis]	0
SnonCXE11	537	gb ACV60238.1 antennal esterase CXE11 [Spodoptera littoralis]	0
SnonCXE13	560	gb ACV60240.1 antennal esterase CXE13 [Spodoptera littoralis]	0
SnonCXE14	560	gb ACV60241.1 antennal esterase CXE14 [Spodoptera littoralis]	0
SnonCXE16	472	gb ACV60243.1 antennal esterase CXE16 [Spodoptera littoralis]	0
SnonCXE17	551	gb ACV60244.1 antennal esterase CXE17 [Spodoptera littoralis]	0
SnonCXE19	617	gb ACV60246.1 antennal esterase CXE19 [Spodoptera littoralis]	0
Snon-Acyl-CoA $\Delta 9$ desaturase	355	gb AAF81788.1 AF272343_1 acyl-CoA delta-9 desaturase [Helicoverpa zea]	0
Snon-Acyl-CoA $\Delta 11$ desaturase	332	gb ACX53794.1 desaturase [Heliothis virescens]	0
Snon-N-acetyltransferase	178	gb EHJ73917.1 N-acetyltransferase [Danaus plexippus]	1e-113
Snon-acyl-CoA $\Delta 9$ desaturase	356	gb AAF81790.2 AF272345_1 acyl-CoA delta-9 desaturase [Helicoverpa zea]	0
Snon-acetyltransferase 1	405	gb EHJ65205.1 acetyltransferase 1 [Danaus plexippus]	0
Snon-desaturase	374	gb AAQ74260.1 desaturase [Spodoptera littoralis]	0
Snon-putative acetyl transferase	231	dbj BAH96561.1 putative acetyl transferase [Bombyx mori]	8e-151
Snon-N-acetyltransferase 3	104	gb EHJ68864.1 N-acetyltransferase [Danaus plexippus]	4e-66
Snon-fatty acid synthase	2380	ref XP_970417.2 PREDICTED: similar to fatty acid synthase [Tribolium castaneum]	0
Snon_fatty-acyl CoA reductase 1	514	gb ADI82774.1 fatty-acyl CoA reductase 1 [Ostrinia nubilalis]	0
Snon_fatty-acyl CoA reductase 2	624	gb ADI82775.1 fatty-acyl CoA reductase 2 [Ostrinia nubilalis]	0
Snon_fatty-acyl CoA reductase 3	104	gb ADI82776.1 fatty-acyl CoA reductase 3 [Ostrinia nubilalis]	4,00e-41
Snon_fatty-acyl CoA reductase 4	498	gb ADI82777.1 fatty-acyl CoA reductase 4 [Ostrinia nubilalis]	0
Snon_fatty-acyl CoA reductase 5	534	gb EHJ72233.1 fatty-acyl CoA reductase 5 [Danaus plexippus]	0
Snon_fatty-acyl CoA reductase 6	525	gb EHJ76493.1 fatty-acyl CoA reductase 6 [Danaus plexippus]	0
Snon_fatty-acyl CoA reductase b	480	gb ADI82779.1 fatty-acyl CoA reductase 6 [Ostrinia nubilalis]	0
Snon_fatty-acyl CoA reductase II	450	gb ADD62441.1 fatty-acyl CoA reductase II [Yponomeuta rorellus]	3,00e-131

Conclusion

Through sequencing of the transcriptome, we identified a variety of genes potentially involved in olfactory signal detection and pheromone biosynthesis in an important pest of maize in the Mediterranean Area. We annotated a total of 68 contigs encoding putative proteins involved in all the steps of odorant detection - transport, docking, recognition and degradation - and 17 enzymes potentially involved in pheromone biosynthesis. Concerning the pheromone detection process, we identified in this species three PBP, two SNMPs, four candidate pheromone receptors and many carboxylesterases as putative pheromone-degrading enzymes. This study constitutes the first large scale description of chemosensory genes in *S. nonagrioides*.

Supplementary Material

Supplementary Material S1 and S2.

<http://www.ijbs.com/v09p0481s1.pdf>

Acknowledgments

We thank Ferial Kaoula (LEGS, Gif-sur-Yvette, France) for insect rearing and the BioGenouest platform for their bioinformatics support. This work was supported by funding from the French ANR (Agence Nationale de la Recherche) (Adaptanthrop project ANR-09-PEXT-009).

Competing Interests

The authors have declared that no competing interest exists.

References

- Anglade P. Les Sésamias. Entomologie appliquée à l'agriculture Tome II, Lépidoptères, II Paris, France: Masson et Cie; 1972;1389-401.
- Melamed-Madjar V, Tam S. A field survey of changes in the composition of corn borer population in Israel. Phytoparasitica 1980; 8: 201-4.
- Rousseau D. Mais: la sésamie progresse cap au nord, dans l'air marin et la douceur angevine: Progression de la sésamie dans les Pays-de-la-Loire: à gérer dans la région, à méditer ailleurs en France. Phytoma-La Défense des Végétaux. 2009; 622:38-41.
- Frérot B, Guillon M, Bernard P, Madrennes L, De Schepper B, Mathieu F, et al. Mating disruption on pink corn borer, *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lep., Noctuidae). Technology Transfer in Mating Disruption. IOBC wprs Bulletin. 1997; 20: 119-28.
- Larue P. La Sésamie (*Sesamia nonagrioides* Lef.): dégâts et actualisation de la lutte. Phytoma - La défense des végétaux. 1984; 277: 163-71.
- Leal WS. Odorant reception in insects: roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes. Annu Rev Entomol. 2013; 58: 373-91.
- Pelosi P, Zhou JJ, Ban LP, Calvello M. Soluble proteins in insect chemical communication. Cell Mol Life Sci. 2006; 63: 1658-76.
- Vogt RG, Prestwich GD, Lerner MR. Odorant-binding-protein subfamilies associate with distinct classes of olfactory receptor neurons in insects. J Neurobiol. 1991; 22: 74-84.
- Silbering AF, Rytz R, Grosjean Y, Abuin L, Ramdya P, Jefferies GS, et al. Complementary function and integrated wiring of the evolutionarily distinct *Drosophila* olfactory subsystems. J Neurosci. 2011; 31: 13357-75.
- Benton R, Sachse S, Michnick SW, Vosshall LB. Atypical membrane topology and heteromeric function of *Drosophila* odorant receptors in vivo. PLoS Biol. 2006; 4: e20.
- Larsson MC, Domingos AI, Jones WD, Chiappe ME, Amrein H, Vosshall LB. Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. Neuron. 2004; 43: 703-14.
- Vosshall LB, Hansson BS. A Unified Nomenclature System for the Insect Olfactory Coreceptor. Chem Senses. 2011; 36: 497-8.
- Wicher D, Schafer R, Bauernfeind R, Stensmyr MC, Heller R, Heinemann SH, et al. *Drosophila* odorant receptors are both ligand-gated and cyclic-nucleotide-activated cation channels. Nature. 2008; 452: 1007-11.
- Sato K, Pellegrino M, Nakagawa T, Vosshall LB, Touhara K. Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels. Nature. 2008; 452: 1002-6.
- Benton R, Vannice KS, Gomez-Diaz C, Vosshall LB. Variant ionotropic glutamate receptors as chemosensory receptors in *Drosophila*. Cell. 2009; 136: 149-62.
- Croset V, Rytz R, Cummins SF, Budd A, Brawand D, Kaessmann H, et al. Ancient protostome origin of chemosensory ionotropic glutamate receptors and the evolution of insect taste and olfaction. PLoS Genet. 2010; 6.
- Abuin L, Bargeton B, Ulbrich MH, Isacoff EY, Kellenberger S, Benton R. Functional architecture of olfactory ionotropic glutamate receptors. Neuron. 2011; 69: 44-60.
- Nichols Z, Vogt RG. The SNMP/CD36 gene family in Diptera, Hymenoptera and Coleoptera: *Drosophila melanogaster*, *D. pseudoobscura*, *Anopheles gambiae*, *Aedes aegypti*, *Apis mellifera*, and *Tribolium castaneum*. Insect Biochem Mol Biol. 2008; 38: 398-415.
- Benton R, Vannice KS, Vosshall LB. An essential role for a CD36-related receptor in pheromone detection in *Drosophila*. Nature. 2007; 450: 289-93.
- de Santis F, Francois MC, Merlin C, Pelletier J, Mailheche-Coisne M, Conti E, et al. Molecular cloning and in situ expression patterns of two new pheromone-binding proteins from the corn stem borer *Sesamia nonagrioides*. J Chem Ecol. 2006; 32: 1703-17.
- Konstantopoulou M, Pratsinis H, Kletsas D, Mazomenos BE. Pheromone-binding protein and general odorant-binding protein of *Sesamia nonagrioides*: sex- and diel-dependent expression. Ent Exp Appl. 2006; 119: 129-36.
- Acin P, Carrascal M, Abian J, Guerrero A, Quero C. Expression of differential antennal proteins in males and females of an important crop pest, *Sesamia nonagrioides*. Insect Biochem Mol Biol. 2009; 39: 11-9.
- Merlin C, Rosell G, Carot-Sans G, Francois MC, Bozzolan F, Pelletier J, et al. Antennal esterase cDNAs from two pest moths, *Spodoptera littoralis* and *Sesamia nonagrioides*, potentially involved in odourant degradation. Insect Mol Biol. 2007; 16: 73-81.
- Legeai F, Malpel S, Montagne N, Monsempes C, Cousserans F, Merlin C, et al. An Expressed Sequence Tag collection from the male antennae of the Noctuid moth *Spodoptera littoralis*: a resource for olfactory and pheromone detection research. BMC Genomics. 2011; 12: 86.
- Jacquin-Joly E, Legeai F, Montagné N, Monsempes C, François MC, Poulain J, et al. Candidate chemosensory Genes In Female Antennae Of The Noctuid Moth *Spodoptera littoralis*. Int J Biol Sci. 2012; 8: 1036.
- Grosse-Wilde E, Kuebler LS, Bucks S, Vogel H, Wicher D, Hansson BS. Antennal transcriptome of *Manduca sexta*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011; 108: 7449-54.
- Bengtsson JM, Trona F, Montagné N, Anfora G, Ignell R, Witzgall P, et al. Putative chemosensory receptors of the codling moth, *Cydia pomonella*, identified by antennal transcriptome analysis. PLoS ONE. 2012; 7(2):e31620.
- Liu Y, Gu S, Zhang Y, Guo Y, Wang G. Candidate olfaction genes identified within the *Helicoverpa armigera* Antennal Transcriptome. PLoS One. 2012; 7: e48260.
- Malpel S, Merlin C, Francois MC, Jacquin-Joly E. Molecular identification and characterization of two new Lepidoptera chemoreceptors belonging to the *Drosophila melanogaster* OR83b family. Insect Mol Biol. 2008; 17: 587-96.
- Mitsuno H, Sakurai T, Murai M, Yasuda T, Kugimiya S, Ozawa R, et al. Identification of receptors of main sex-pheromone components of three Lepidopteran species. Eur J Neurosci. 2008; 28: 893-902.
- Miura N, Nakagawa T, Tatsuki S, Touhara K, Ishikawa Y. A male-specific odorant receptor conserved through the evolution of sex pheromones in *Ostrinia* moth species. Int J Biol Sci. 2009; 5: 319-30.
- Wanner KW, Nichols AS, Allen JE, Bunger PL, Garczynski SF, Linn CE, et al. Sex pheromone receptor specificity in the European corn borer moth, *Ostrinia nubilalis*. PLoS One. 2010; 5: e8685.
- Widmayer P, Heifetz Y, Breer H. Expression of a pheromone receptor in ovipositor sensilla of the female moth (*Heliothis virescens*). Insect Mol Biol. 2009; 18: 541-7.
- Sreng I, Maume B, Frérot B. Analyse de la secretion phéromonale produite par les femelles vierges de *Sesamia nonagrioides* (Lépidoptère, Noctuidae). CR Acad Sc Paris. 1985; 301: 439-42.
- Mazomenos BE. Sex pheromone components of corn stalk borer, *Sesamia nonagrioides* (Lef.). Partial chemical purification and its biological activity under laboratory conditions. J Chem Ecol. 1989; 6: 565-72.
- Poitout S, Buès R. Elevage de chenilles de vingt-huit espèces de Lépidoptères Noctuidae et de deux espèces d'Arctiidae sur milieu artificiel simple. Particularités de l'élevage selon les espèces. Ann Zool Ecol anim. 1974; 6: 431-41.
- d'Alençon E, Sezutsu H, Legeai F, Permal E, Bernard-Samain S, Gimenez S, et al. Extensive synteny conservation of holocentric chromosomes in Lepidoptera despite high rates of local genome rearrangements. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010; 107: 7680-5.
- Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. EMBnetjournal. 2011; 17.
- Schmieder R, Edwards R. Fast Identification and Removal of Sequence Contamination from Genomic and Metagenomic Datasets. PLoS ONE. 2011; 6: e17288.

40. Grabherr MG, Haas BJ, Yassour M, Levin JZ, Thompson DA, Amit I, et al. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nat Biotech*. 2011; 29: 644-52.
41. Chevreaux B, Pfisterer T, Drescher B, Driesel AJ, Müller WEG, Wetter T, et al. Using the miraEST Assembler for Reliable and Automated mRNA Transcript Assembly and SNP Detection in Sequenced ESTs. *Genome Research*. 2004; 14: 1147-59.
42. Conesa A, Gotz S, Garcia-Gomez JM, Terol J, Talon M, Robles M. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*. 2005; 21: 3674-6.
43. Gouzy J, Carrere S, Schiex T. FrameDP: sensitive peptide detection on noisy matured sequences. *Bioinformatics*. 2009; 25: 670-1.
44. Durand N, Carot-Sans G, Cheretemps T, Montagne N, Jacquin-Joly E, Debernard S, et al. A diversity of putative carboxylesterases are expressed in the antennae of the noctuid moth *Spodoptera littoralis*. *Insect Mol Biol*. 2010; 19: 87-97.
45. Vogel H, Heide AJ, Heckel DG, Groot AT. Transcriptome analysis of the sex pheromone gland of the noctuid moth *Heliothis virescens*. *BMC Genomics*. 2010; 11: 29.
46. Huang X, Madan A. CAP3: A DNA Sequence Assembly Program. *Genome Research*. 1999; 9: 868-77.
47. Petersen TN, Brunak S, von Heijne G, Nielsen H. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions. *Nat Methods*. 2011; 8: 785-6.
48. Buchan DW, Ward SM, Lobley AE, Nugent TC, Bryson K, Jones DT. Protein annotation and modelling servers at University College London. *Nucleic Acids Res*. 2010; 38: W563-8.
49. Crooks GE, Hon G, Chandonia JM, Brenner SE. WebLogo: a sequence logo generator. *Genome Res*. 2004; 14: 1188-90.
50. Tusnady GE, Simon I. The HMMTOP transmembrane topology prediction server. *Bioinformatics*. 2001; 17: 849-50.
51. Tanaka K, Uda Y, Ono Y, Nakagawa T, Suwa M, Yamaoka R, et al. Highly selective tuning of a silkworm olfactory receptor to a key mulberry leaf volatile. *Curr Biol*. 2009; 19: 881-90.
52. Krieger J, Raming K, Dewer YM, Bette S, Conzelmann S, Breer H. A divergent gene family encoding candidate olfactory receptors of the moth *Heliothis virescens*. *Eur J Neurosci*. 2002; 16: 619-28.
53. Krieger J, Grosse-Wilde E, Gohl T, Dewer YM, Raming K, Breer H. Genes encoding candidate pheromone receptors in a moth (*Heliothis virescens*). *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101: 11845-50.
54. Poivet E, Gallot A, Montagné N, Glaser N, Legeai F, Jacquin-Joly E. A comparison of the olfactory gene repertoires of adults and larvae in the noctuid moth *Spodoptera littoralis*. *PLoS ONE*. 2013; 8: e60263.
55. Zhan S, Merlin C, Boore JL, Reppert SM. The monarch butterfly genome yields insights into long-distance migration. *Cell*. 2011; 147: 1171-85.
56. The Heliconius Genome Consortium. Islands of divergence underlie adaptive radiation in a butterfly genome. *Nature*. 2012; 487: 94-8.
57. Gong DP, Zhang HJ, Zhao P, Xia QY, Xiang ZH. The Odorant Binding Protein gene family from the genome of silkworm, *Bombyx mori*. *BMC Genomics*. 2009; 10: 332.
58. Krieger J, Ganssle H, Raming K, Breer H. Odorant binding proteins of *Heliothis virescens*. *Insect Biochem Mol Biol*. 1993; 23: 449-56.
59. Krieger J, Mameli M, Breer H. Elements of the olfactory signaling pathways in insect antennae. *Invertebrate Neuroscience*. 1997; 3: 137-44.
60. Robertson HM, Martos R, Sears CR, Todres EZ, Walden KK, Nardi JB. Diversity of odourant binding proteins revealed by an expressed sequence tag project on male *Manduca sexta* moth antennae. *Insect Mol Biol*. 1999; 8: 501-18.
61. Gong DP, Zhang HJ, Zhao P, Lin Y, Xia QY, Xiang ZH. Identification and expression pattern of the chemosensory protein gene family in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem Mol Biol*. 2007; 37: 266-77.
62. Picimbon J-F, Dietrich K, Krieger J, Breer H. Identity and expression pattern of chemosensory proteins in *Heliothis virescens* (Lepidoptera, Noctuidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 2001; 31: 1173-81.
63. Ozaki K, Utoguchi A, Yamada A, Yoshikawa H. Identification and genomic structure of chemosensory proteins (CSP) and odorant binding proteins (OBP) genes expressed in foreleg tarsi of the swallowtail butterfly *Papilio xuthus*. *Insect Biochem Mol Biol*. 2008; 38: 969-76.
64. Olivier V, Monsempes C, Francois MC, Poivet E, Jacquin-Joly E. Candidate chemosensory ionotropic receptors in a Lepidoptera. *Insect Mol Biol*. 2011; 20: 189-99.
65. Katoh K, Toh H. Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program. *Bioinformatics*. 2010; 26: 1899-900.
66. Edgar RC. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*. 2004; 32: 1792-7.
67. Gouy M, Guindon S, Gascuel O. SeaView version 4: A multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Mol Biol Evol*. 2010; 27: 221-4.
68. Le SQ, Lartillot N, Gascuel O. Phylogenetic mixture models for proteins. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2008; 363: 3965-76.
69. Abascal F, Zardoya R, Posada D. ProtTest: selection of best-fit models of protein evolution. *Bioinformatics*. 2005; 21: 2104-5.
70. Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst Biol*. 2010; 59: 307-21.
71. Anisimova M, Gascuel O. Approximate Likelihood-Ratio Test for Branches: A Fast, Accurate, and Powerful Alternative. *Systematic Biology*. 2006; 55: 539-52.
72. Letunic I, Bork P. Interactive Tree Of Life v2: online annotation and display of phylogenetic trees made easy. *Nucleic Acids Research*. 2011; 39: W475-W8.
73. Anders S, Huber W. Differential expression analysis for sequence count data. *Genome Biol*. 2010; 11: R106.
74. R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria <http://www.R-project.org>. 2011.
75. Vieira FG, Rozas J. Comparative genomics of the odorant-binding and chemosensory protein gene families across the Arthropoda: origin and evolutionary history of the chemosensory system. *Genome Biol Evol*. 2011; 3: 476-90.
76. Jacquin-Joly E, Vogt RG, Francois MC, Nagnan-Le Meillour P. Functional and expression pattern analysis of chemosensory proteins expressed in antennae and pheromonal gland of *Manestra brassicae*. *Chem Senses*. 2001; 26: 833-44.
77. Grosse-Wilde E, Gohl T, Bouche E, Breer H, Krieger J. Candidate pheromone receptors provide the basis for the response of distinct antennal neurons to pheromonal compounds. *Eur J Neurosci*. 2007; 25: 2364-73.
78. Wang G, Vasquez GM, Schal C, Zwiebel LJ, Gould F. Functional characterization of pheromone receptors in the tobacco budworm *Heliothis virescens*. *Insect Mol Biol*. 2011; 20: 125-33.
79. Patch HM, Velarde RA, Walden KK, Robertson HM. A candidate pheromone receptor and two odorant receptors of the hawkmoth *Manduca sexta*. *Chem Senses*. 2009; 34: 305-16.
80. Wanner KW, Anderson AR, Trowell SC, Theilmann DA, Robertson HM, Newcomb RD. Female-biased expression of odourant receptor genes in the adult antennae of the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Mol Biol*. 2007; 16: 107-19.
81. Rogers ME, Sun M, Lerner MR, Vogt RG. Smpp-1, a novel membrane protein of olfactory neurons of the silk moth *Antheraea polyphemus* with homology to the CD36 family of membrane proteins. *J Biol Chem*. 1997; 272: 14792-9.
82. Rogers ME, Krieger J, Vogt RG. Antennal SNMPs (sensory neuron membrane proteins) of Lepidoptera define a unique family of invertebrate CD36-like proteins. *J Neurobiol*. 2001; 49: 47-61.
83. Oakeshott JG, Claudianos C, Russell RJ, Robin GC. Carboxyl/cholinesterases: a case study of the evolution of a successful multigene family. *Bioessays*. 1999; 21: 1031-42.
84. Mas E, Lloria J, Quero C, Camps F, Fabrias G. Control of the biosynthetic pathway of *Sesamia nonagrioides* sex pheromone by the pheromone biosynthesis activating neuropeptide. *Insect Biochem Mol Biol*. 2000; 30: 455-9.
85. Letunic I, Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL): an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Bioinformatics*. 2007; 23: 127-8.

**Chapitre 3 : Expression différentielle des
transcriptomes chimiosensoriels de
deux populations du foreur de tiges
*Sesamia nonagrioides***

Introduction

Le but de cette étude était de comparer les profils d'expression des gènes présents dans le transcriptome chimiosensoriel d'insectes provenant de deux populations différentes. Une population provient du Kenya et est collectée sur graminées sauvages du genre *Typha* et l'autre population provient du sud de la France et est présente sur les cultures de maïs. Cette dernière population est originaire de l'Afrique de l'Est et s'est donc adaptée à un nouvel environnement. Disposer de ces deux populations nous donne donc l'opportunité d'étudier l'adaptation d'un insecte à sa plante-hôte, avec de plus un intérêt agronomique puisqu'il s'agit d'une plante cultivée. Cette étude peut donc constituer une première approche vers la compréhension des mécanismes impliqués dans le passage d'un écosystème naturel vers un environnement fortement anthropisé.

Nous avons utilisé une approche RNAseq appliquée sur différents tissus possédant des fonctions chimiosensorielles, à savoir des antennes et des palpes de larves, des antennes de femelles adultes et des ovipositeurs, connus pour exprimer des gènes chimiosensoriels. Nous nous sommes principalement intéressés aux gènes impliqués dans l'olfaction car nous savons que l'odorat joue un rôle incontournable dans l'adaptation des insectes à leur écosystème, leur permettant d'analyser leur environnement à la recherche de nourriture pour les larves, d'un partenaire sexuel ou d'un site d'oviposition pour les adultes. Des changements dans la perception des signaux olfactifs conduisent donc à des variations dans le comportement des insectes quant à leur choix d'habitat ou de partenaire pour la reproduction. De tels changements ont généralement pour origine des mutations de gènes, des pertes ou des gains de gènes ou des variations d'expression de gènes. Dans cette étude nous avons examiné cette dernière possibilité grâce aux caractéristiques du séquençage Illumina et notamment sa fonction quantitative. Nous avons également bénéficié de notre transcriptome de référence dans lequel nous avons identifié des gènes d'intérêt. Le séquençage Illumina a lui aussi été réalisé par la société GATC et je remercie Aurore Gallot et Fabrice Legeai pour leur aide pour les analyses bioinformatiques.

Grâce aux outils bioinformatiques, et notamment la suite logiciel DESeq, nous avons pu mettre en évidence des gènes dont l'expression était spécifique d'une population et des gènes avec des sous- ou sur-expression selon la population, qui pourraient constituer des indices d'adaptation à la plante-hôte.

Ainsi nous avons pu trouver des variations de gènes intéressantes entre les 2 populations. En effet, il apparaît tout d'abord qu'au sein de chaque tissu des gènes provenant de virus et des gènes codant pour des P450 sont différentiellement exprimés. Les variations d'expression de ces gènes peuvent s'expliquer par la différence d'environnement entre les populations et notamment la différence de pathogènes et les différences liées à la plante-hôte.

Concernant les gènes chimiosensoriels, il est apparu des différences d'expression entre les 2 populations aussi bien chez les larves que chez les adultes. Ainsi nous avons été en mesure de détecter une surexpression chez les larves françaises de 2 OBP, 3 CSP et une estérase tandis que nous avons observé une surexpression de 3 CSP chez les larves du Kenya.

Pour les tissus adultes, nous trouvons des différences d'expression de GOBP2, surexprimée chez les femelles Françaises, de CSP2 surexprimée chez les femelles Kenyans et OR14 surexprimé chez les femelles Françaises. De plus, de manière inattendue nous avons également remarqué des différences d'expression de PBP. En effet, il est apparu que PBP1 était surexprimée chez les femelles de France tandis que PBP2 était surexprimée dans l'autre population.

Differential expression of the chemosensory transcriptome in two populations of the stemborer *Sesamia nonagrioides*

Nicolas Glaser¹⁻², Aurore Gallot¹⁻³, Fabrice Legeai³, Myriam Harry⁵⁻⁶,
Laure Kaiser-Arnault², Paul-André Calatayud²⁻⁷,
Emmanuelle Jacquin-Joly^{1*}

Author affiliations :

¹INRA, UMR 1272, Physiologie de l’Insecte : Signalisation et Communication, route de Saint-Cyr, F-78026 Versailles cedex, France

²IRD, UR 072, c/o CNRS, Laboratoire Evolution, Génomes et Spéciation, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France

³IRISA, équipe GenScale, Campus universitaire de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, France

⁴UPMC - Université Paris 6, UMR 1272 Physiologie de l’Insecte : Signalisation et Communication, 7 quai Saint-Bernard, F-75252 Paris cedex 05, France

⁵Université Paris-Sud 11, 91405 Orsay Cedex, France

⁶ CNRS UPR9034, Laboratoire Evolution, Génomes et Spéciation, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France

⁷IRD, UR 072, c/o ICIPE, NSBB Project, PO Box 30772-00100, Nairobi, Kenya

**Corresponding author:*

Dr Emmanuelle Jacquin-Joly

INRA, UMR 1272 INRA-UPMC Physiologie de l’Insecte : Signalisation et Communication, route de Saint-Cyr, F-78026 Versailles cedex, France.

Tel: (33) 1 30 83 32 12; fax: (33) 1 30 83 31 19;

E-mail: emmanuelle.jacquin@versailles.inra.fr

Key-words: chemosensory genes, RNAseq, anthropisation, *Sesamia nonagrioides*

Abstract

The stemborer *Sesamia nonagrioides* displays significant geographic differences in ecological preferences that may be congruent with patterns of molecular variation and transcriptome differential expression. In this study, we used RNAseq to compare the expression of the transcriptome of chemsensory organs from individuals of this species from two geographical populations, one collected in Kenya on Typha and one collected in France on cultivated maize. Different tissues were investigated: larvae antennae and maxillary palps, female adult antennae and ovipositors, all these organs harboring chemosensory functions. The transcriptome changes between the two populations were investigated and resulted in 6,550, 281 and 324 differentially expressed transcripts for the larval tissues, the female antennae and the ovipositors, respectively. These transcripts encompass genes uniquely expressed in one of the two populations as well as genes up- or down-regulated between the two populations. All of the differentially expressed transcripts were analyzed using Gene Ontology Annotation. In all the three tissues, we evidenced differential expression of a variety of virus proteins, cytochrome P450 and chemosensory genes, among which numerous binding proteins and candidate odorant-degrading enzymes. These results contribute to an in-depth study of the candidate genes involved in the adaptation to a new environment.

Introduction

The stemborer *Sesamia nonagrioides* is one of the major pests of cultivated maize in Mediterranean Europe [1-3]. The Palearctic population has been shown to originate by natural colonization from East and West Africa and is the progeny of the cross between these two African populations [4]. Previous works on the African and European populations had shown that their genetic divergence was low, while they were reproductively isolated in natura and specialized on different host plants [4]. In East Africa, *S. nonagrioides* populations are hardly ever found in crops and they are not considered as pests [4]. Although the African and European populations exhibit a geographic and ecologic differentiation and that the relative contribution of isolation by the distance or by the host-plant may both contribute to colonization, their occurrence gives the opportunity to approach the mechanisms of host-plant adaptation, and specifically to crop adaptation, as a first step to understand the shift from natural ecosystems to anthroposystems.

Here, we compared two *S. nonagrioides* populations, one collected in France on maize and one collected in Kenya (East Africa) on *Typha*. We focused our study on organs involved in olfaction, since this sense plays a crucial role in ecological adaptation, allowing the exploitation of a given resource and guiding chemosensory preferences for food (larvae and adult stages), for a mate (adults) and for oviposition sites (mated females). Changes in olfactory sensitivity can be driven by subtle mutations in key genes [5], gene gains and losses [6-8], and/or variation in gene expression [9, 10]. This last possibility has been investigated here, via a RNAseq approach.

In insect, the odorant recognition depends on the activation of a specific set of proteins expressed in the olfactory organs that consist of the antennae (adults and larvae) and the maxillary palps (larvae), some chemosensory sensilla being also found on the ovipositor. Important protein families are the secreted odorant-binding proteins (OBPs) and chemosensory proteins (CSPs), the membrane bound olfactory receptors (ORs) and ionotropic receptors (IRs), and the odorant-degrading enzymes (ODEs). The OBPs are proposed to bind volatile ligands and to transport them to the membrane of the olfactory receptor neurons (ORNs) [11, 12]. They may also act as a first filter in odor discrimination by specific binding with the odorant molecule [13]. CSPs are also found in abundance in insect chemosensory organs but their role is still unclear. Although some exhibit binding activity towards odorants and pheromones [14, 15], they may participate in other physiological processes beyond chemoreception [16, 17]. Volatile receptors consist of two families of receptors, the ORs and

the IRs [18]. ORs and IRs are located in the dendritic membrane of ORNs and their activation upon ligand binding leads to the generation of an electrical signal that is transmitted to the brain [19, 20]. Numerous enzymes are found in antennae and, depending on their catalytic activities, they have been proposed to be involved in olfactory signal termination, via transformation of the odorant molecules, and/or in xenobiotic degradation [11]. ODEs ensure a fast deactivation of the receptors and thus may be important in the dynamic and the sensitivity of the response. ODEs from different families have been described as expressed in the insect chemosensory organs, among which esterases [21], cytochrome P450 [22] and glutathione-S-transferase (GST) [23].

We have recently established the chemosensory transcriptome of *S. nonagrioides* and annotated numerous genes from all OBP, CSP, OR, IR and ODE families [24]. This transcriptome was assembled from 454 and Illumina reads obtained from two of the *S. nonagrioides* populations described upper: a Palearctic population collected on cultivated maize (France) and an East African population (Kenya) collected on Typha. In particular, we sequenced individual libraries prepared from antennae and maxillary palps from larvae (driving feeding behavior), female adult antennae (driving female host preference) and female adult ovipositors (possibly driving oviposition site preference), these last being known to express some chemosensory genes [25]. Here, we used these RNAseq data to perform a comparative analysis of the chemosensory transcriptome expression depending on these specific natural environments. RNAs were collected after having reared the two populations in the laboratory for two generations, in order to uniquely reveal genetically controlled differential expressions.

We evidenced both uniquely expressed genes in one population and up- or down-regulated genes between the two populations, as possible molecular signatures associated with host-plant adaptation. Among them, we identified numerous chemosensory genes, such as candidates OBPs, CSPs and ODEs. Our results provide insights into the relationship between populations collected in different geographic areas and found on different host-plants, and expression of chemosensory genes. They suggest that adaptation to a new environment (including a new cultivated host-plant) is associated with up or down-regulation of critical chemosensory genes. This study constitutes a first step in the understanding of the mechanisms of regulation involved in adaptive processus at population levels.

Material and Methods

Sampling of natural populations

S. nonagrioides individual larvae were collected on *Typha domingensis* (Monocot, Typhaceae) in Makindu (Eastern Kenya, 170 km from Nairobi, 1°29'S, 37°16'E, 1978 m a.s.l) (denominated thereafter as the Kenyan population) several times a year in 2011-2012, and on *Zea mays* (Monocot, Poaceae) in Rieumes (Southwest of France, 40 km from Toulouse, 43°22'N, 1°11'E, 300 m a.s.l.) (denominated thereafter as the French population) during winters 2011-2012.

Insect rearing

To eliminate local effects (temperature, humidity...), possible stress effects (shipping) and to focus on genetic variations, the two populations of *S. nonagrioides* caterpillars collected in the wild were reared in the laboratory for two generations before tissue collection. Insects were reared on a modified artificial diet from Poitout & Bues [26], containing agar, maize flour, wheat germ, dried yeast and a mixture of vitamins and antibiotics. The insects were kept in a controlled chamber at $24.4 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$, $54.4 \pm 5.8\%$ relative humidity (means $\pm$ SD) and an L16:D8 reversed photoperiod.

Tissue collection and RNA preparation

Antennae and maxillary palps were dissected from 4th instar larvae antennae from the French and the Kenyan populations in the middle of the scotophase. Three biological replicates consisted of two tissue collections performed in 2011 and one in 2012. For both populations, adult antennae and ovipositors were dissected from 1 to 2-day-old naïve females in the third hour of the scotophase. Only one biological replicate for each population could be performed for the adult tissues collected in 2012, due to problems encountered during insect pupation in 2011. All dissected organs were immediately frozen in liquid nitrogen, and stored at -80°C until extraction. Total RNAs were extracted from each tissue as described [24] using TRIzol® Reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Six libraries from larvae antennae and palps (2 populations, three replicates each), female ovipositors (2 populations, one replicate each) and female antennae (2 populations, one replicate each) were independently used as templates for Illumina sequencing as described (one channel for the four adult libraries, one channel for the

six larvae libraries, single read 51 pb length, HighSeq2000; GATC Biotech) [24]. RNAseq data have been deposited in LepidoDB (http://www.inra.fr/lepidodb/sesamia_nonagrioides), a centralized bioinformatic resource for the genomics of lepidopteran pests [27].

Illumina reads alignment and statistical analysis

The 10 processed Illumina data sets were aligned on the *S. nonagrioides* transcriptome with Bowtie [28] and, for each library, the number of reads aligned on each contig was counted with SAMtools [29] (Table 1). Unaligned reads and multiple aligned reads were excluded from further analyses. The final counts table was imported in R version 2.11.0 [30]. No-expressed and low-expressed contigs were removed by filtering contigs represented by a number of reads inferior to the number of libraries analyzed. Overall, 42,962 contigs (larval libraries) 43,298 contigs (female antennae libraries) and 42,215 contigs (ovipositor libraries) were kept for further analysis.

Differentially expressed contigs between the two populations and in the different organs were identified using the DESeq package v. 1.8.3 [31], a method based on the negative binomial model implemented in R software. In brief, count normalization was performed by estimating the normalization factor by the median of scaled counts. For larval tissue from the two population, dispersion was estimated for each contig by comparing the counts over the three replicates, assuming a parametric relationship between dispersion and mean expression level. Then, a curve that fitted through the estimates constituted an approximation of dispersion (Figure 1A). Finally, the maximal value between the empirical and the fitted dispersion was assigned to each contig. DESeq provided *p*-values for an exact test which were next adjusted to *p*-values False Discovery Rates (FDR) for multiple testing with the Benjamini-Hochberg procedure [32]. A cutoff of 0.01 was applied to consider the effect as significant. For the adult tissues (antennae and ovipositors) for which we had only one replicate for each population, normalization between the two data sets was performed by the median of scaled counts. Dispersion was estimated for each contig by comparing the counts across the two conditions, assuming a parametric relationship between variance and mean expression level. Then, a curve that fitted through the estimates constituted an approximation of dispersion (Figure 1B). Finally, the fitted dispersion value was assigned to

each contig. Annotation of the differentially expressed contigs between French and Kenyan populations was performed using BLASTX version 2.2.23 against the NCBI non redundant database, with a $10E-5$ E-value cutoff. BLAST2GO was used for the Gene Ontology (GO) annotation (GO association done by a BLAST against the NCBI NR database) [33].

RESULTS

Transcriptome profiling of the caterpillar chemosensory organs

For each contig of *S. nonagrioides* transcriptome, the number of short reads aligned in the six larval libraries was counted and differential expression between conditions was tested. Euclidian distances between data sets revealed no difference between replicates and a clusterization between French and Kenyan samples (Figure 2), indicating a strong differentiation of transcriptome according to the populations. Overall, out of 42,962 contigs used in the analysis, we identified 6,550 (15.2%) differentially expressed contigs between the larval chemosensory organs of the French and the Kenyan populations of *S. nonagrioides* (Table 1, Supplementary information S1) (p -values FDR < 0.01). In the French population, 4,786 contigs (11.1%) were up-regulated, among which 796 were exclusively expressed in this population and 3,990 were overexpressed with fold change (FC) values from 2.9 to 3,648. In the Kenyan population, 1,764 contigs (4.1%) were up-regulated, among which 485 were exclusively expressed in this population, and 1,279 were up-regulated (FC from 3.6 to 826). Among these 6,550 contigs, 4,386 (67 %) have no hit or hits with hypothetical proteins of unknown function. Among the contigs enriched in the French larvae chemosensory organs, the most represented GO terms were binding and catalytic activity (molecular function, level 2), cellular and metabolic processes (biological process, level 2), and cell and organelle (cellular component, level 2) (Supplementary information S2A). A similar representation was obtained with the Kenyan larvae chemosensory organs (Supplementary information S2B). Considering the up-regulated contigs in the French population, the best p -value ($1.18E-62$) was obtained for a contig whose best blast hit corresponded to a virus polyprotein encoding gene (Snon_454_Illumina_rep_c1, fold change 2003,3). A variety of other contigs similar to virus polypeptide encoding genes were found to be exclusively expressed or highly up-regulated (more than 1000x) in the larval chemosensory organs of the French population (Supplementary information S1). Among the transcripts exclusively expressed in the larval chemosensory organs of the French population, we also evidenced some GSTs and CSPs. Considering the up-regulated contigs in the Kenyan population, the best p -value ($8.25E-23$)

was obtained for a contig whose best blast hit corresponded to a CSP encoding gene (Snon_454_Illumina_rep_c48752, fold change 261,5). Among the transcripts identified exclusively in the larval chemosensory organs of the Kenyan population, a gene similar to a diazepam-binding inhibitor was identified. Another highly up-regulated sequence (626.9x) was similar to an antimicrobial peptide encoding gene (Supplementary information S1). Among other contigs, we found 16 contigs related to P450s, 10 to GSTs and one to esterase enriched in the French population, and 10 P450s, 10 GSTs and 4 esterases in the Kenyan population. Focusing more precisely on olfactory genes, SnonGOBP2, OBP3, CSP9, CSP11, CSP16 and CXE5 were up-regulated in the larval chemosensory organs of the French population, whereas CSP2, CSP4 and CSP18 were up-regulated in the Kenyan population (Table 2).

Transcriptome profiling of the female antennae

Correlations between populations were equal to 0.39, indicating large transcriptomic differences between the French and the Kenyan populations (Figure 3A). Out of 43,298 contigs used in the analysis, we identified 281 (0.6%) differentially expressed contigs between female antennae from French and Kenyan populations by applying a cutoff of 0.01 FDR (Table 1, Supplementary information S3). 125 contigs (2.9%) were up-regulated in French population, with FC values from 14.9 to infinite, while 156 contigs (3.6%) were up-regulated in Kenyan population (FC from 15.9 to infinite). Infinite indicated that the corresponding contig was expressed in only one of the two populations. Among these 281 regulated contigs, 108 (38 %) had no hit or hits with hypothetical proteins of unknown function. As observed for larvae, among the contigs enriched in both the French and the Kenyan antennae, the most represented GO terms were binding and catalytic activity (molecular function, level 2), metabolic and cellular processes (biological process, level 2), cell and organelle (cellular component, level 2) (Supplementary information S4A,B). Considering the up-regulated contigs in the French and the Kenyan populations, the best *p*-values ($7.44\text{E-}15$ and $1.1\text{E-}17$, respectively) were obtained for contigs whose best blast hit corresponded to virus polyprotein encoding genes (Snon_454_Illumina_rep_c2, fold change 704.56 and Snon_454_Illumina_rep_c131, fold change 4228,2, respectively). 14 contigs were found to be only expressed in the antennae of the French population, among which contigs similar to OBP/CSP encoding genes. Other highly up-regulated sequences (more than 1000x) consisted of contigs similar to diapausine precursor, vacuolar H⁺ ATPase G-subunit, DUF233 and chemosensory protein encoding genes (Supplementary information S3). 27

contigs were found to be only expressed in the antennae of the Kenyan population, among which a contig similar to a diazepam-binding inhibitor encoding gene. Other highly up-regulated sequences (more than 1000x) consisted of contigs similar to bacteria/virus protein and OBP/CSP encoding genes (Supplementary information S3). Among other contigs, we found one P450 and four GSTs enriched in the French population, and four P450s and one GST in the Kenyan population. Focusing more precisely on olfactory genes, SnonPBP1, GOBP2 and OR14 were up-regulated in the female antennae of the French population, whereas SnonPBP2 and CSP2 were up-regulated in the Kenyan population (Table 2).

Transcriptome profiling of the ovipositors

Large transcriptomic differences between French and Kenyan populations were observed (Figure 3B). Out of 42,215 contigs used in this analysis, we identified 324 differentially expressed contigs (0.7%) between female antennae from French and Kenyan populations, by applying a cutoff of 0.01 FDR (Table 1, Supplementary information S5). 156 contigs were up-regulated in French population, with FC values from 16.5 to infinite, while 168 contigs were up-regulated in Kenyan population (FC from 19.2 to infinite). 164 (50 %) regulated contigs have no hit or hits with hypothetical proteins of unknown function. Among the contigs enriched in the French ovipositors, the most represented GO terms were binding and catalytic activity (molecular function, level 2), cellular and metabolic processes (biological process, level 2), cell and organelle (cellular component, level 2) (Supplementary information S6A). A similar representation was obtained with the Kenyan ovipositors (Supplementary information S6B). Considering the up-regulated contigs in the French population, the best *p*-value (4.38×10^{-15}) was obtained for a contig without any blast hit. The best *p*-value obtained for a contig with a hit was 1.66×10^{-12} (OBP encoding gene, Snon_454_Illumina_rep_c2369, fold change 1278,4). 22 contigs were found to be only expressed in the ovipositors of the French population, among which a gene similar to an antennal esterase encoding gene (Supplementary information S5). Other highly up-regulated sequences (more than 1000x) consisted of contigs with no hit on NR and one similar to an OBP encoding gene (Supplementary information S5). Considering the up-regulated contigs in the Kenyan population, the best *p*-value (2.62×10^{-13}) was obtained for a contig whose best blast hit corresponded to a muscle LIM protein encoding gene (Snnon_454_Illumina_rep_c6237, fold change 774,4). 21 contigs were found to be only expressed in the ovipositors of the Kenyan population, among which a gene similar to a diazepam-binding inhibitor encoding gene. Other highly up-regulated sequences (more than 1000x) consisted of genes with no hit and one

similar to a dehydrecdysonone 3b-reductase encoding gene (Table 2). Among other interesting contigs, we found a P450 enriched in the Kenyan population.

DISCUSSION

The *S. nonagrioides* reference transcriptome that we previously established [24] was used to map short Illumina reads obtained from chemosensory organs of larvae (antennae and maxillary palps) and of adult females (antennae and ovipositors) obtained from the two populations collected in different places on different host-plants. Both larvae and adult tissues were investigated in this study, since they are supposed to provide complementary information in the analysis of adaptation factors, because adult females select oviposition sites and larvae use the resources.

Evidences for contigs uniquely expressed in one population as well as contigs regulated between the two populations

A high number of contigs were expressed in only one of the two populations. Currently, we miss genomic data to investigate whether the corresponding genes are indeed not expressed or present as pseudogenes in the genome in one population, or alternatively recently duplicated in the other population. A much higher number of differentially expressed genes were observed in the larval tissues than in the adult tissues. This may be due to a better statistic resolution in the analyses of larval tissues since the dispersion was estimated based on three replicates, instead of only one for the adult tissue analyses. Alternatively, it has to be noticed that when dissecting larval antennae and maxillary palps (very small in larvae), we collected at the same time muscles, hemolymph and maybe other tissues from the mouth part. Thus the transcriptome may be much more diverse than that obtained from female adult tissues, although the GO profiles of the different tissues were quite similar. Another explanation may reside in the different ecology and life span of larvae and adults, which result in different environment exposure conditions. Whereas larvae eat grow and accumulate energy during three to four weeks, adults from this species only live for five to six days and do not feed, their proboscis being atrophied. Interestingly, 65% of the differentially expressed genes in the larval tissues were more highly expressed in the French population than in the Kenyan one, possibly suggesting that the larvae from France had a higher transcriptional activity than the

ones from Kenya. On the contrary, similar percentages of differentially expressed genes were found between the two populations in the adult tissues.

Virus and P450 as possible signatures of anthropisation

In all the tissues examined, and especially in the larval tissues, we evidenced differential expression of a variety of virus proteins and cytochrome P450. This may reflect different virus contamination profiles according to the geographical area and different responses to xenobiotic expositions. P450s are involved in the metabolism of [xenobiotic](#) substances such as drugs and other [toxic](#) chemicals, and have also been proposed to act as ODEs in several insect species [22, 34]. Since the two populations were reared in the laboratory in identical conditions for two generations before tissue preparation, the differential expression of a variety of P450s between the two *S. nonagrioides* populations may thus reflect genetic adaptation to both anthropization (eating cultivated plants enriched in insecticides/pesticides may results in P450 over-expression) and host-plant (necessity to detect different olfactory cues from the host or plant volatiles in different ratios, necessity to express different P450s to detoxify different plant secondary compounds).

Differential expression of numerous chemosensory genes

Looking at the chemoreception genes, in all tissues examined, we found most regulation in candidate genes involved in perireceptor events, namely the OBPs, CSPs, and ODEs, as possible signatures of adaptation to a new environment. Only one OR (SnonOR14) was found as differentially expressed in the caterpillar chemosensory organs between the two populations (Table 2). OR expression modulation related to olfactory plasticity has been previously described in the mosquito *Anopheles gambiae*: AgOR1 was down-regulated after a blood meal [9]. However, this observation reflects plasticity and not genetic adaptation. For adult tissues, it is possible that, due to our lack of biological repetition, we may have miss modulated OR genes. In addition, SnonOR14 was annotated previously as a candidate pheromone receptor and not as a plant odorant receptor, since it groups in the pheromone receptor clade in the phylogeny we constructed [24]. In view of our results, it could be hypothesized that adaptation to a new environment is related to differences in olfactory sensitivity that may result from an increased access of the selected odorants to the receptor (OBP/CSP action) and/or from a better odorant clearance close to the ORs (ODE action),

rather than by regulating OR expression. In these conditions, ORNs would be able to detect odorants in different concentrations. Interestingly, such modulation at the perireceptor events, and not at the receptor level, has been evidenced previously, according to circadian rhythm [35], olfactory experience [36] or feeding status (Poivet E., personal communication), although these differences were not genetic.

Differential expression of genes involved in pheromone detection

Among the OBPs differentially expressed between the two populations, we found two pheromone-binding proteins (PBPs), SnonPBP1 and SnonPBP2 (Table 2). SnonPBP1 was enriched in the adult antennae of the French population whereas SnonPBP2 was enriched in that of the Kenyan population. Moth PBPs constitute a subclass of insect OBPs proposed to specifically bind pheromone components and to bring them to the receptors. Both *in vitro* [37-39] and *in vivo* [40, 41] functional studies have demonstrated that these PBPs selectively bind different pheromone components and it has been proposed that they act as a first filter in pheromone discrimination. One thus expects a correlation between the PBP expression levels and the pheromone component ratios. Differential expression of PBPs in the two populations of *S. nonagrioides* suggests that females present slight variations in their pheromone component ratio, which remains to be verified. It has to be pointed out that, in our study, we investigated female antennae and not male antennae since our objective was to highlight genes putatively involved in host plant sensing. Now, in view of our findings, investigation of PBP expression levels in male antennae in the two populations would be necessary to complement these observations. In accordance with PBP differential expression, and as mentioned above, the single OR found to be differentially expressed could be classified as a sex pheromone receptor. Surprisingly, this OR was found to be expressed in larval tissues, whereas pheromone receptors have been previously described as exclusively expressed in adults [42-45]. Recently, we demonstrated that larvae from another noctuid species, the cotton leafworm *Spodoptera littoralis*, were attracted to a sex pheromone source, and we hypothesized that this pheromone cue could be used to enhance food detection [46]. These observations let suggest that the larvae may express pheromone receptors. However, among the four candidate pheromone receptors described in *S. littoralis* [47], none were found to be expressed in larvae [45, 46]. Here, the discovery of a candidate pheromone receptor expressed in the larvae chemosensory organs brings new insights in the understanding of this surprising phenomenon.

Conclusion

Herbivore adaptation to a new environment depends in part on the differential expression of entire suites of the genes involved in a variety of process. A previous molecular study on one nuclear and two mitochondrial genes of *S. nonagrioides* showed that (i) the African populations expanded during the last interglacial, crossed the Sahara and mixed in North Africa where fixation of the East mitochondrial genome occurred, (ii) the species then colonized Europe, and (iii) the time to the ancestor of the Palearctic population was about 108 000 years [4]. Here, we evidenced that chemosensory genes are differentially expressed in two populations of *S. nonagrioides* originating from different host-plants in different geographical areas (one Palearctic population and one East African population). Together, our results suggest that host-plant and/or environment adaptation is associated in part with *de novo* expression and up or down-regulation of critical chemosensory genes, allowing the Palearctic *S. nonagrioides* population to be adapted to a new geographical area with different host plants.

Acknowledgments:

We thank Bruno Le Ru and the IRD/NSSB team of Icipe for the collection of the Kenyan population of *S. nonagrioides*, Erick Campan, Alban Sagouis and Nicolas Joly for help in insect collections in France, Ferial Kaoula and Floriane Chardonnet (LEGS, Gif-sur-Yvette, France) for insect rearing, Bastien Chouquet, Christelle Monsempes and Elodie Demondion for help in dissections, and the BioGenouest platform for their bioinformatics support. This work was supported by funding from the French ANR (Agence Nationale de la Recherche) (Adaptanthrop project ANR-09-PEXT-009).

Competing Interests

The authors have declared that no competing interest exists.

FIGURE LEGENDS

Figure 1.

Empirical (dot) and fitted (curve) dispersion values plotted against mean expression strength. A: larval samples. B: adult samples.

Figure 2.

Euclidean distances between the transcriptomes of the French and the Kenyan populations of *Sesamia nonagrioides* (larval chemosensory organs).

Heatmap showing the Euclidean distances between the French (F) and Kenyan (K) larval chemosensory organ samples as calculated from mapped libraries after variance-stabilizing transformation of the count data (Kenyan1,2,3; French1,2,3 represent the 3 biological replicates for each populations).

Figure 3.

Correlation plots between antennae (A) and ovipositors (B) from the French and Kenyan populations designed after a median normalization between samples.

References

1. Anglade P. Les Sésamias. Entomologie appliquée à l'agriculture Tome II, Lépidoptères, II Paris, France: Masson et Cie; 1972. p. 1389-401.
2. Melamed-Madjar V, Tam S. A field survey of changes in the composition of corn borer population in Israel. *Phytoparasitica* 1980; 8: 201-4.
3. Rousseau D. Maïs: la sésamie progresse cap au nord, dans l'air marin et la douceur angevine: Progression de la sésamie dans les Pays-de-la-Loire: à gérer dans la région, à méditer ailleurs en France. *Phytoma-La Défense des Végétaux*. 2009; 622 38-41.
4. Moyal P, Tokro P, Bayram A, Savopoulou-Soultani M, Conti E, Eizaguirre M, et al. Origin and taxonomic status of the Palearctic population of the stem borer *Sesamia nonagrioides* (Lefèbvre) (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 2011; 103: 904–22.
5. Leary GP, Allen JE, Bunger PL, Luginbill JB, Linn CE, Jr., Macallister IE, et al. Single mutation to a sex pheromone receptor provides adaptive specificity between closely related moth species. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109: 14081-6.
6. Vieira FG, Rozas J. Comparative genomics of the odorant-binding and chemosensory protein gene families across the Arthropoda: origin and evolutionary history of the chemosensory system. *Genome Biol Evol*. 2011; 3: 476-90.
7. Guo S, Kim J. Molecular evolution of *Drosophila* odorant receptor genes. *Mol Biol Evol*. 2007; 24: 1198-207.
8. Gardiner A, Barker D, Butlin RK, Jordan WC, Ritchie MG. *Drosophila* chemoreceptor gene evolution: selection, specialization and genome size. *Mol Ecol*. 2008; 17: 1648-57.
9. Fox AN, Pitts RJ, Robertson HM, Carlson JR, Zwiebel LJ. Candidate odorant receptors from the malaria vector mosquito *Anopheles gambiae* and evidence of down-regulation in response to blood feeding. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98: 14693-7.
10. Biessmann H, Nguyen QK, Le D, Walter MF. Microarray-based survey of a subset of putative olfactory genes in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Insect Molecular Biology*. 2005; 14: 575-89.
11. Leal WS. Odorant reception in insects: roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes. *Annu Rev Entomol*. 2013; 58: 373-91.
12. Pelosi P, Zhou JJ, Ban LP, Calvellido M. Soluble proteins in insect chemical communication. *Cell Mol Life Sci*. 2006; 63: 1658-76.
13. Leal WS. Proteins that make sense. In: Blomquist GJ, Vogt RG, editors. *Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology*: Elsevier Academic Press; 2003. p. 447-76.
14. Jacquin-Joly E, Vogt RG, Francois MC, Nagnan-Le Meillour P. Functional and expression pattern analysis of chemosensory proteins expressed in antennae and pheromonal gland of *Mamestra brassicae*. *Chem Senses*. 2001; 26: 833-44.
15. Briand L, Swasdipan N, Nespoulous C, Bezirard V, Blon F, Huet JC, et al. Characterization of a chemosensory protein (ASP3c) from honeybee (*Apis mellifera* L.) as a brood pheromone carrier. *Eur J Biochem*. 2002; 269: 4586-96.
16. Kitabayashi AN, Arai T, Kubo T, Natori S. Molecular cloning of cDNA for p10, a novel protein that increases in the regenerating legs of *Periplaneta americana* (American cockroach). *Insect Biochem Mol Biol*. 1998; 28: 785-90.

17. Gonga L, Luo Q, Rizwan-ul-Haqa M, Hua M-Y. Cloning and characterization of three chemosensory proteins from *Spodoptera exigua* and effects of gene silencing on female survival and reproduction. *Bull Entomol Res.* 2012.
18. Silbering AF, Rytz R, Grosjean Y, Abuin L, Ramdya P, Jefferis GS, et al. Complementary function and integrated wiring of the evolutionarily distinct *Drosophila* olfactory subsystems. *J Neurosci.* 2011; 31: 13357-75.
19. Touhara K, Vosshall LB. Sensing odorants and pheromones with chemosensory receptors. *Annu Rev Physiol.* 2009; 71: 307-32.
20. Benton R, Vannice KS, Gomez-Diaz C, Vosshall LB. Variant ionotropic glutamate receptors as chemosensory receptors in *Drosophila*. *Cell.* 2009; 136: 149-62.
21. Ishida Y, Leal WS. Rapid inactivation of a moth pheromone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102: 14075-9.
22. Maïbeche-Coisné M, Nikonov AA, Ishida Y, Jacquin-Joly E, Leal WS. Pheromone anosmia in a scarab beetle induced by *in vivo* inhibition of a pheromone-degrading enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101: 11459-64.
23. Rogers ME, Jani MK, Vogt RG. An olfactory-specific glutathione-S-transferase in the sphinx moth *Manduca sexta*. *J exp Biol.* 1999; 202: 1625-37.
24. Glaser N, Gallot A, Legeai F, Montagné N, Poivet E, Harry M, et al. Candidate Chemosensory Genes In The Stemborer *Sesamia nonagrioides*. *Int J Biol Sci.* 2013; 9:481-495.
25. Widmayer P, Heifetz Y, Breer H. Expression of a pheromone receptor in ovipositor sensilla of the female moth (*Heliothis virescens*). *Insect Mol Biol.* 2009; 18: 541-7.
26. Poitout S, Buès R. Elevage de chenilles de vingt-huit espèces de Lépidoptères Noctuidae et de deux espèces d'Arctiidae sur milieu artificiel simple. Particularités de l'élevage selon les espèces. *Ann Zool Ecol anim.* 1974; 6: 431-41.
27. d'Alençon E, Sezutsu H, Legeai F, Permal E, Bernard-Samain S, Gimenez S, et al. Extensive synteny conservation of holocentric chromosomes in Lepidoptera despite high rates of local genome rearrangements. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010; 107: 7680-5.
28. Langmead B. Aligning short sequencing reads with Bowtie. *Curr Protoc Bioinformatics.* 2010 Chapter 11:Unit 11: 7.
29. Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, et al. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics.* 2009; 25: 2078-9.
30. Team RDC. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria <http://www.R-project.org>. 2011.
31. Anders S, Huber W. Differential expression analysis for sequence count data. *Genome Biol.* 2010; 11: R106.
32. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the royal statistical society series B-methodological.* 1995; 57: 289-300.
33. Conesa A, Gotz S, Garcia-Gomez JM, Terol J, Talon M, Robles M. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics.* 2005; 21: 3674-6.
34. Maibeche-Coisne M, Jacquin-Joly E, Francois MC, Nagnan-Le Meillour P. cDNA cloning of biotransformation enzymes belonging to the cytochrome P450 family in the antennae of the noctuid moth *Mamestra brassicae*. *Insect Mol Biol.* 2002; 11: 273-81.

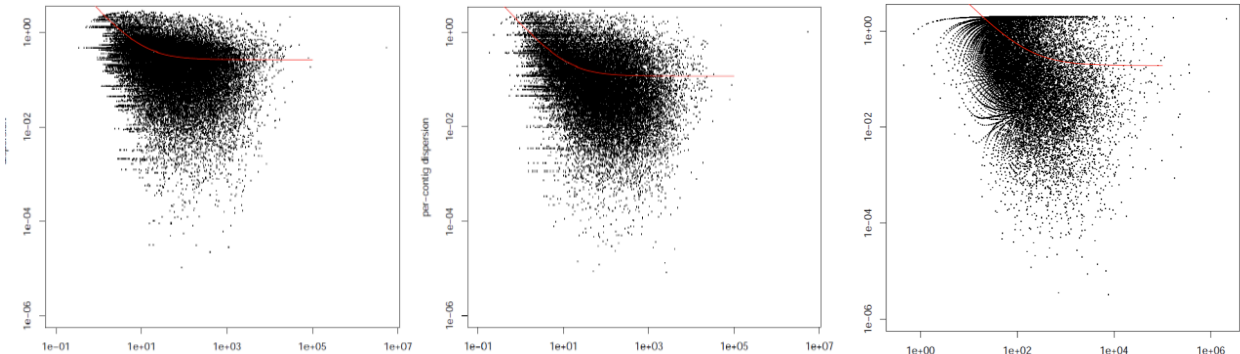
35. Merlin C, Lucas P, Rochat D, Francois MC, Maibèche-Coisne M, Jacquín-Joly E. An antennal circadian clock and circadian rhythms in peripheral pheromone reception in the moth *Spodoptera littoralis*. *J Biol Rhythms*. 2007; 22: 502-14.
36. Guerrieri F, Gemenó C, Monsempes C, Anton S, Jacquín-Joly E, Lucas P, et al. Experience-dependent modulation of antennal sensitivity and input to antennal lobes in male moths (*Spodoptera littoralis*) pre-exposed to sex pheromone. *J Exp Biol*. 2012; 215: 2334-41.
37. Plettner E, Lazar J, Prestwich EG, Prestwich GD. Discrimination of pheromone enantiomers by two pheromone binding proteins from the gypsy moth *Lymantria dispar*. *Biochemistry*. 2000; 39: 8953-62.
38. Prestwich GD, Du G, LaForest S. How is pheromone specificity encoded in proteins? *Chem Senses*. 1995; 20: 461-9.
39. Grosse-Wilde E, Svatos A, Krieger J. A Pheromone-Binding Protein Mediates the Bombykol-Induced Activation of a Pheromone Receptor In Vitro. *Chem Senses*. 2006; 31: 547-55.
40. Pophof B. Moth pheromone binding proteins contribute to the excitation of olfactory receptor cells. *Naturwissenschaften*. 2002; 89: 515-8.
41. Pophof B. Pheromone-binding proteins contribute to the activation of olfactory receptor neurons in the silkworms *Antheraea polyphemus* and *Bombyx mori*. *Chem Senses*. 2004; 29: 117-25.
42. Tanaka K, Uda Y, Ono Y, Nakagawa T, Suwa M, Yamaoka R, et al. Highly selective tuning of a silkworm olfactory receptor to a key mulberry leaf volatile. *Curr Biol*. 2009; 19: 881-90.
43. Miura N, Nakagawa T, Tatsuki S, Touhara K, Ishikawa Y. A male-specific odorant receptor conserved through the evolution of sex pheromones in *Ostrinia* moth species. *Int J Biol Sci*. 2009; 5: 319-30.
44. Miura N, Nakagawa T, Touhara K, Ishikawa Y. Broadly and narrowly tuned odorant receptors are involved in female sex pheromone reception in *Ostrinia* moths. *Insect Biochem Mol Biol*. 2010; 40: 64-73.
45. Poivet E, Gallot A, Montagné N, Glaser N, Legeai F, Jacquín-Joly E. A comparison of the olfactory gene repertoires of adults and larvae in the noctuid moth *Spodoptera littoralis*. *PLoS ONE*. 2013; 8: e60263.
46. Poivet E, Rharrabe K, Monsempes C, Glaser N, Rochat D, Renou M, et al. The use of the sex pheromone as an evolutionary solution to food source selection in caterpillars. *Nat Commun*. 2012; 3: 1047.
47. Legeai F, Malpel S, Montagne N, Monsempes C, Cousserans F, Merlin C, et al. An Expressed Sequence Tag collection from the male antennae of the Noctuid moth *Spodoptera littoralis*: a resource for olfactory and pheromone detection research. *BMC Genomics*. 2011; 12: 86.

Figure 1

A B

French samples Kenyan samples Adult samples

Per-contig
dispersion



Normalized gene expressions, per-contig

Figure 2.

Euclidean distances between the transcriptomes from the French and Kenyan populations (larval chemosensory organs)

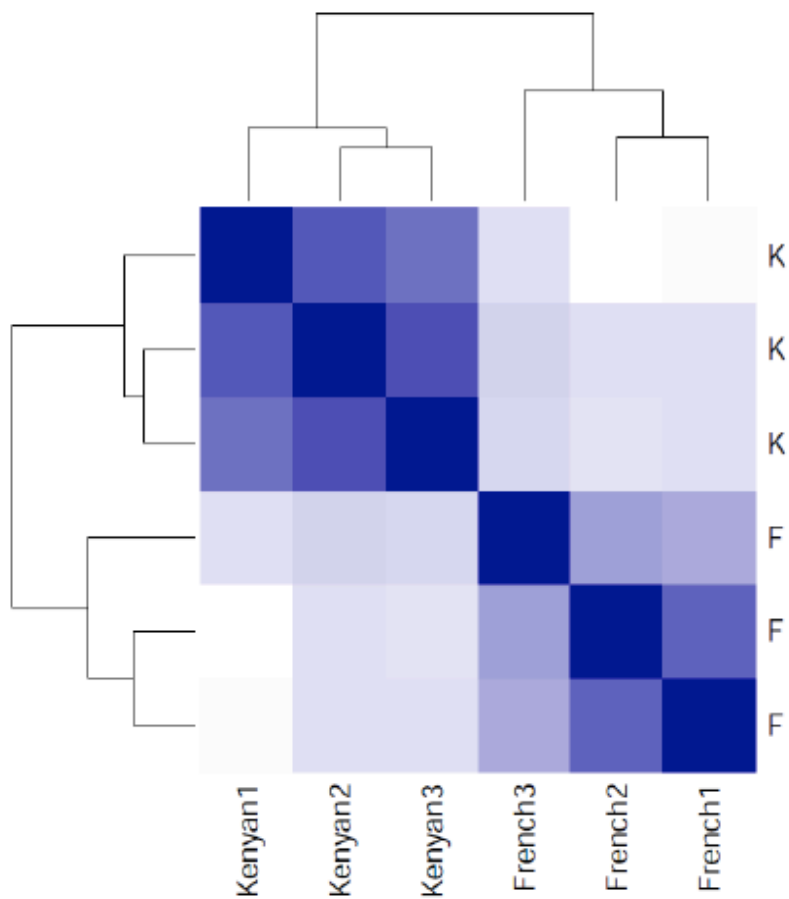
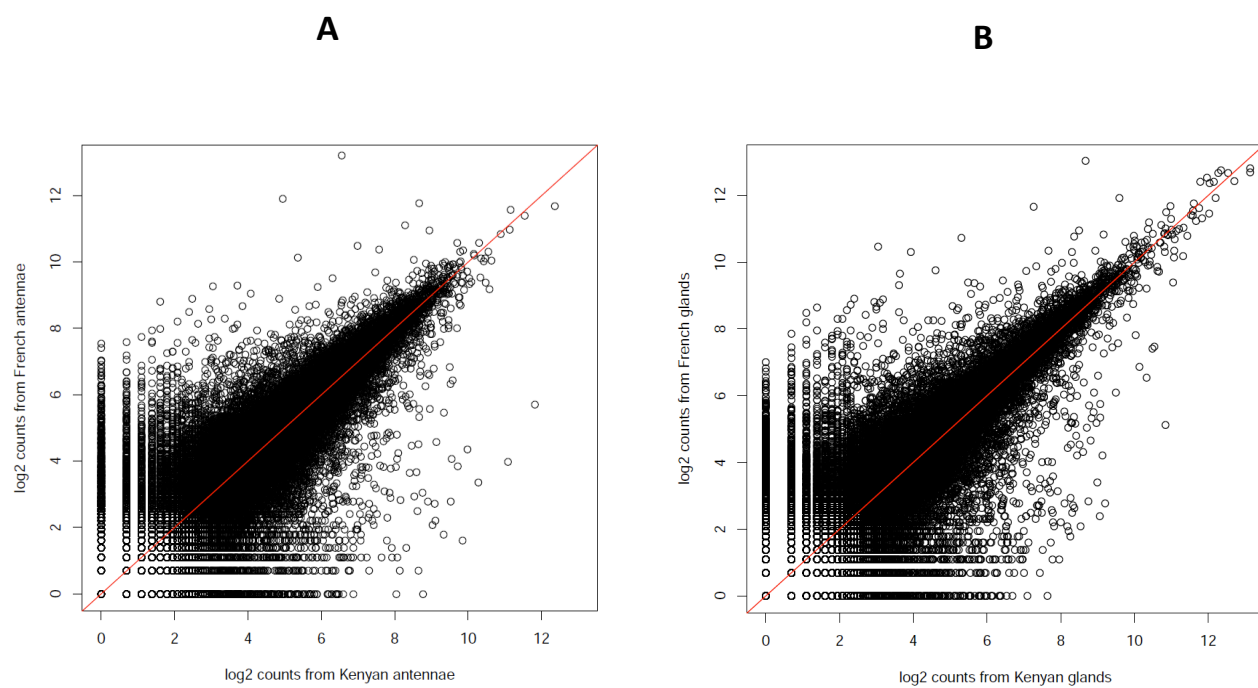


Figure 3

Correlation plot of count data sets from the Kenyan versus the French population



Populations	French			Kenyan			French	Kenyan	French	Kenyan
Tissues	Larvae n°1	Larvae n°2	Larvae n°3	Larvae n°1	Larvae n°2	Larvae n°3	female antennae	female antennae	female ovipositors	female ovipositors
Nb of raw Illumina reads	42747969	43358859	20611819	27503668	34908485	21567094	45097179	36430026	58581441	58579062
Nb of processe d reads	42745643	43357076	20605140	27499605	34904719	21561270	45094117	34087925	55686597	55688903
Nb of aligned reads	15339732	15441512	6541958	11271232	15010980	9474270	16619473	14694802	23099463	24529902
Nb of contigs used in the analyses	42,962						43,298		42,215	
Nb of regulated contigs	6,550						281		324	
Nb of up- regulated contifs	4,786			1,764			125	156	156	168

Table 1

Summary of RNAseq data

	Contig name (Lepidodb)	Female antennae		Larval chemosensory organs		Female ovipositors	
		France	Kenya	France	Kenya	France	Kenya
<i>SnonOR14</i>	Snon_454_Illumina_c12213						
<i>SnonGOBP2</i>	Snon_454_Illumina_rep_c335						
<i>SnonOBP3</i>	Snon_454_Illumina_rep_c317						
<i>SnonPBP1</i>	Snon_454_Illumina_rep_c6633						
<i>SnonPBP2</i>	Snon_454_Illumina_rep_c444						
<i>SnonCSP2</i>	Snon_454_Illumina_rep_c10749						
<i>SnonCSP3</i>	Snon_454_Illumina_rep_c5448						
<i>SnonCSP4</i>	Snon_454_Illumina_rep_c621						
<i>SnonCSP9</i>	Snon_454_Illumina_rep_c197						
<i>SnonCSP10</i>	Snon_454_Illumina_rep_c2904						
<i>SnonCSP11</i>	Snon_454_Illumina_rep_c2018						
<i>SnonCSP16</i>	Snon_454_Illumina_rep_c6958						
<i>SnonCSP17</i>	Snon_454_Illumina_rep_c6899						
<i>SnonCSP18</i>	Snon_454_Illumina_rep_c5066						
<i>Snon_N-acetyltransferase 3</i>	Snon_454_Illumina_rep_c28613						
<i>Snon_fatty-acyl CoA reductase 3</i>	Snon_454_Illumina_rep_c6076						
<i>Snon_fatty-acyl CoA reductase b</i>	Snon_454_Illumina_c15604						
<i>SnonCXE5</i>	Snon_454_Illumina_rep_c2009						

Table 2: schematic view of the *Sesamia nonagrioides* chemosensory contigs previously annotated (Glaser et al., 2013) differentially expressed between the two populations (France, Kenya) and in the different organs. Blue boxes indicate over-expression in the French population; red boxes indicate over-expression in the Kenyan population. OR: olfactory

receptor; GOBP: general-odorant binding protein; OBP: odorant-binding protein; PBP: pheromone-binding protein; CSP: chemosensory protein; CXE: esterase.

Supplementary information S1: List of contigs differentially expressed in the larval chemosensory organs between the French and the Kenyan populations of *Sesamia nonagrioides* (p -value FDR < 0.01). Only contigs with a blast hit and with a fold change > 500 are presented. Grey lines: contigs enriched in the French population. White lines: contigs enriched in the Kenyan population. (Pop Spec: contigs found to be expressed in only one population).

Contig ID (Lepidodb)	Best BLASTX Hit	E-Value	Fold Change (France/Kenya)	p-value
Snon_454_Illumina_rep_c12142	gi 112983092 ref NP_001037596.1 ALY [Bombyx mori]	5.91124E-25	Pop Spec	2,44E-05
Snon_454_Illumina_rep_c16313	gi 112983206 ref NP_001037662.1 eukaryotic translation initiation factor 5 [Bombyx mori]	2.6241E-17	Pop Spec	2,32E-06
Snon_454_Illumina_rep_c49475	gi 112984114 ref NP_001037434.1 yellow-y precursor [Bombyx mori]	5.79812E-77	Pop Spec	2,19E-16
Snon_454_Illumina_rep_c17857	gi 114050773 ref NP_001040155.1 short-chain dehydrogenase/reductase-like [Bombyx mori]	1.02605E-20	Pop Spec	1,10E-12
Snon_454_Illumina_rep_c5230	gi 114050993 ref NP_001040146.1 proteasome zeta subunit [Bombyx mori]	2.45988E-51	Pop Spec	7,91E-12
Snon_454_Illumina_rep_c25562	gi 114051245 ref NP_001040387.1 proteasome alpha 3 subunit [Bombyx mori]	1.67692E-81	Pop Spec	1,98E-06
Snon_454_Illumina_rep_c17881	gi 114051499 ref NP_001040361.1 heme oxygenase [Bombyx mori]	4.0672E-20	Pop Spec	0,0006555
Snon_454_Illumina_rep_c50329	gi 114051904 ref NP_001040434.1 F-actin capping protein beta subunit [Bombyx mori]	1.21005E-46	Pop Spec	0,0001835
Snon_454_Illumina_rep_c3440	gi 114051932 ref NP_001040194.1 interphase cytoplasmic foci protein 45 [Bombyx mori]	8.80497E-61	Pop Spec	0,0005282
Snon_454_Illumina_rep_c11918	gi 114052122 ref NP_001040215.1 stathmin [Bombyx mori]	3.40669E-41	Pop Spec	5,29E-06
Snon_454_Illumina_rep_c38184	gi 114052454 ref NP_001040478.1 NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 10 [Bombyx mori]	1.52633E-47	Pop Spec	6,44E-05
Snon_454_Illumina_rep_c28992	gi 114052577 ref NP_001040259.1 Mo-molybdopterine cofactor sulfurase [Bombyx mori]	9.28831E-55	Pop Spec	2,67E-12
Snon_454_Illumina_rep_c10464	gi 114052663 ref NP_001040488.1 vacuolar ATP synthase subunit H [Bombyx mori]	8.6601E-49	Pop Spec	7,34E-11
Snon_454_Illumina_rep_c2434	gi 114053205 ref NP_001040291.1 DID protein [Bombyx mori]	1.58521E-58	Pop Spec	3,65E-14
Snon_454_Illumina_rep_c49580	gi 114053263 ref NP_001040283.1 mitochondrial thioredoxin 2 [Bombyx mori]	6.22261E-43	Pop Spec	5,58E-19
Snon_454_Illumina_rep_c2859	gi 114053277 ref NP_001040526.1 H+ transporting ATP synthase O subunit isoform 1 [Bombyx mori]	1.73751E-45	Pop Spec	1,44E-12
Snon_454_Illumina_rep_c16078	gi 114842187 dbj BAF32578.1 polyprotein [Kakugo virus]	8.53523E-32	Pop Spec	4,67E-10
Snon_454_Illumina_c27023	gi 114842187 dbj BAF32578.1 polyprotein [Kakugo virus]	4.70181E-14	Pop Spec	4,62E-19
Snon_454_Illumina_c25177	gi 114842189 dbj BAF32579.1 polyprotein [Kakugo virus]	8.70839E-29	Pop Spec	0,0013047
Snon_454_Illumina_c34453	gi 114842189 dbj BAF32579.1 polyprotein [Kakugo virus]	3.63716E-36	Pop Spec	2,86E-06
Snon_454_Illumina_c21043	gi 114842243 dbj BAF32606.1 polyprotein [Kakugo virus]	1.71042E-8	Pop Spec	4,72E-15
Snon_454_Illumina_rep_c5399	gi 116833143 gb ABK29484.1 ribonuclease [Helicoverpa armigera]	1.37989E-50	Pop Spec	3,57E-12
Snon_454_Illumina_rep_c39973	gi 121755938 gb ABM64816.1 polyprotein [Deformed wing virus]	5.34559E-20	Pop Spec	4,00E-13
Snon_454_Illumina_rep_c36305	gi 148298707 ref NP_001091800.1 uncharacterized protein LOC778505 [Bombyx mori]	4.07035E-58	Pop Spec	0,0006877
Snon_454_Illumina_rep_c644	gi 148298770 ref NP_001091821.1 ATPase inhibitor-like protein [Bombyx mori]	3.90361E-22	Pop Spec	7,34E-14
Snon_454_Illumina_rep_c11455	gi 148298849 ref NP_001091796.1 programmed cell death protein 5-like protein [Bombyx mori]	1.26382E-22	Pop Spec	6,72E-10
Snon_454_Illumina_rep_c11088	gi 14860969 gb IAAK72378.1 60S ribosomal protein L7/L12 precursor [Spodoptera frugiperda]	1.04846E-50	Pop Spec	2,84E-06
Snon_454_Illumina_c19776	gi 148717938 ref YP_001285409.1 polyprotein [Brevicoryne brassicae picorna-like virus]	6.48424E-24	Pop Spec	6,70E-15
Snon_454_Illumina_c25568	gi 148717938 ref YP_001285409.1 polyprotein [Brevicoryne brassicae picorna-like virus]	6.5713E-7	Pop Spec	2,47E-14
Snon_454_Illumina_c34412	gi 148717938 ref YP_001285409.1 polyprotein [Brevicoryne brassicae picorna-like virus]	4.40206E-7	Pop Spec	4,16E-08
Snon_454_Illumina_c47656	gi 148717938 ref YP_001285409.1 polyprotein [Brevicoryne brassicae picorna-like virus]	5.22876E-15	Pop Spec	2,67E-15
Snon_454_Illumina_rep_c2252	gi 15741226 ref NP_277061.1 polyprotein [Perina nuda virus]	3.90757E-76	Pop Spec	4,86E-08
Snon_454_Illumina_c31610	gi 15741226 ref NP_277061.1 polyprotein [Perina nuda virus]	2.1615E-17	Pop Spec	1,49E-09
Snon_454_Illumina_rep_c32058	gi 15741226 ref NP_277061.1 polyprotein [Perina nuda virus]	3.50192E-9	Pop Spec	3,99E-19
Snon_454_Illumina_rep_c49793	gi 157704347 gb ABV68862.1 lysozyme [Trichoplusia ni]	3.43394E-49	Pop Spec	1,70E-06
Snon_454_Illumina_rep_c9368	gi 158635929 ref NP_001040216.1 translocase of inner mitochondrial membrane 8 homolog b [Bombyx mori]	3.4984E-38	Pop Spec	2,81E-05
Snon_454_Illumina_rep_c50010	gi 158962511 dbj BAF91716.1 chemosensory protein [Papilio xuthus]	4.48019E-33	Pop Spec	2,33E-08
Snon_454_Illumina_rep_c16459	gi 160333678 ref NP_001036994.1 glutathione S-transferase sigma 2 [Bombyx mori]	1.82065E-28	Pop Spec	9,25E-15

Snon_454_illumina_rep_c12351	gi 162462371 ref NP_001104817.1 hemocytin [Bombyx mori]	8.41894E-64	Pop Spec	9,50E-18
Snon_454_illumina_rep_c40495	gi 16566713 gb AAL26576.1 AF429974_1ribosomal protein L12 [Spodoptera frugiperda]	1.87494E-51	Pop Spec	1,20E-22
Snon_454_illumina_rep_c27270	gi 170041628 ref XP_001848558.1 ATP synthase a chain [Culex quinquefasciatus]	7.19481E-10	Pop Spec	0,00026389
Snon_454_illumina_c48437	gi 187765480 ref YP_001883317.1 structural protein [Cypovirus 5]	1.50036E-15	Pop Spec	3,56E-33
Snon_454_illumina_rep_c40350	gi 207107802 dbj BAG71920.1 chemosensory protein 12 [Papilio xuthus]	4.65324E-30	Pop Spec	1,26E-22
Snon_454_illumina_rep_c28152	gi 208972529 gb ACI32825.1 beta-1,3-glucan recognition protein 1 [Helicoverpa armigera]	3.99921E-53	Pop Spec	4,18E-20
Snon_454_illumina_rep_c9461	gi 209878929 ref XP_002140905.1 hypothetical protein [Cryptosporidium muris RN66]	2.69929E-6	Pop Spec	6,80E-10
Snon_454_illumina_rep_c23626	gi 221112326 ref XP_002156741.1 PREDICTED: similar to conserved hypothetical protein, partial [Hydra magnipapillata]	1.6949E-6	Pop Spec	0,00041463
Snon_454_illumina_rep_c9346	gi 223671103 tpd FAA00503.1 TPA: putative cuticle protein [Bombyx mori]	3.38062E-41	Pop Spec	2,95E-06
Snon_454_illumina_rep_c34678	gi 223671384 tpd FAA00644.1 TPA: putative cuticle protein [Bombyx mori]	3.26212E-59	Pop Spec	2,95E-31
Snon_454_illumina_rep_c49572	gi 224999285 gb ACN78408.1 glycogen phosphorylase [Spodoptera exigua]	6.87143E-121	Pop Spec	0,0001192
Snon_454_illumina_rep_c19166	gi 225580674 gb ACN94442.1 protease/RNA-dependent RNA polymerase, partial [Nasonia vitripennis virus]	9.57215E-34	Pop Spec	4,04E-14
Snon_454_illumina_rep_c39981	gi 226528044 dbj BAH56564.1 TIA-1-related RNA binding protein [Spodoptera litura]	3.67235E-61	Pop Spec	9,16E-07
Snon_454_illumina_rep_c14070	gi 2337770 dbj BAA21826.1 transposase [Attacus atlas]	7.42777E-27	Pop Spec	1,52E-15
Snon_454_illumina_c11156	gi 238014838 gb ACR38454.1 unknown [Zea mays]	7.55105E-20	Pop Spec	5,30E-24
Snon_454_illumina_c20957	gi 238801930 ref YP_002925132.1 VP1 [Stretch Lagoon orbivirus]	2.37827E-18	Pop Spec	2,14E-31
Snon_454_illumina_rep_c48944	gi 238915956 gb ACR78447.1 lebotin-like antibacterial protein [Heliothis virescens]	8.26761E-19	Pop Spec	9,16E-15
Snon_454_illumina_rep_c48768	gi 25090166 sp Q8TOW8.1 DIAP_GASATRecName: Full=Diapause-specific peptide; Short=DSP; AltName: Full=Diapausin; Flags: Precursor	9.73644E-12	Pop Spec	6,75E-07
Snon_454_illumina_rep_c5763	gi 260657054 gb ACX47897.1 glutathione S-transferase [Amyelois transitella]	1.56053E-64	Pop Spec	8,31E-06
Snon_454_illumina_rep_c8984	gi 260907912 gb ACX53757.1 DUF233 protein [Heliothis virescens]	2.46016E-47	Pop Spec	3,79E-17
Snon_454_illumina_rep_c50823	gi 260907956 gb ACX53777.1 lysophospholipase [Heliothis virescens]	1.70906E-46	Pop Spec	5,75E-06
Snon_454_illumina_rep_c50364	gi 260907984 gb ACX53791.1 pyruvate carboxylase [Heliothis virescens]	1.99284E-33	Pop Spec	0,00022324
Snon_454_illumina_rep_c21447	gi 262073276 gb ACY09483.1 NADH dehydrogenase subunit 5 [Aphidius gifuensis]	2.38971E-10	Pop Spec	1,27E-05
Snon_454_illumina_rep_c23600	gi 270010025 gb EFA06473.1 hypothetical protein TcasGA2_TC009358 [Tribolium castaneum]	9.4138E-23	Pop Spec	1,20E-18
Snon_454_illumina_rep_c6755	gi 270010395 gb EFA06843.1 hypothetical protein TcasGA2_TC009786 [Tribolium castaneum]	1.72921E-71	Pop Spec	0,0013047
Snon_454_illumina_rep_c1589	gi 270014488 gb EFA10936.1 hypothetical protein TcasGA2_TC001766 [Tribolium castaneum]	4.14571E-54	Pop Spec	4,20E-13
Snon_454_illumina_rep_c26449	gi 270015511 gb EFA11959.1 hypothetical protein TcasGA2_TC005046 [Tribolium castaneum]	1.9878E-14	Pop Spec	2,50E-11
Snon_454_illumina_rep_c48774	gi 281398678 gb ADA68175.1 cytochrome p450 321B1 [Spodoptera litura]	4.98101E-40	Pop Spec	1,08E-08
Snon_454_illumina_rep_c19491	gi 284027830 gb ADB66739.1 coatomer protein complex subunit zeta [Bombyx mori]	1.74612E-32	Pop Spec	2,35E-15
Snon_454_illumina_c42344	gi 289739999 gb ADD18747.1 polyprotein [Glossina morsitans morsitans]	2.71411E-14	Pop Spec	8,24E-11
Snon_454_illumina_c27813	gi 295065658 ref YP_003587602.1 NADH dehydrogenase subunit 5 [Hyphantria cunea]	1.49639E-44	Pop Spec	1,09E-11
Snon_454_illumina_rep_c13237	gi 296005647 ref YP_003622540.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	1.44407E-19	Pop Spec	1,81E-22
Snon_454_illumina_c19595	gi 296005647 ref YP_003622540.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	1.5425E-25	Pop Spec	1,76E-15
Snon_454_illumina_c23014	gi 296005647 ref YP_003622540.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	1.97492E-9	Pop Spec	2,07E-06
Snon_454_illumina_rep_c27211	gi 296005647 ref YP_003622540.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	1.613E-6	Pop Spec	2,91E-15
Snon_454_illumina_c28553	gi 296005647 ref YP_003622540.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	1.81247E-14	Pop Spec	6,82E-33
Snon_454_illumina_c32044	gi 296005647 ref YP_003622540.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	5.586E-7	Pop Spec	5,55E-10
Snon_454_illumina_c42053	gi 296005647 ref YP_003622540.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	2.54495E-12	Pop Spec	0,00126093
Snon_454_illumina_c44229	gi 296005647 ref YP_003622540.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	1.12281E-15	Pop Spec	6,59E-06
Snon_454_illumina_c47902	gi 296396422 gb ADH10220.1 RNA-dependent RNA polymerase [Antheraea mylitta cypovirus 4]	1.19427E-45	Pop Spec	9,20E-15
Snon_454_illumina_c48217	gi 296396422 gb ADH10220.1 RNA-dependent RNA polymerase [Antheraea mylitta cypovirus 4]	8.5012E-70	Pop Spec	6,88E-14
Snon_454_illumina_c16215	gi 297578409 gb ADI46683.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	2.79744E-21	Pop Spec	0,00152039
Snon_454_illumina_c28160	gi 297578409 gb ADI46683.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	4.85859E-11	Pop Spec	1,57E-05
Snon_454_illumina_rep_c9651	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	8.8566E-26	Pop Spec	2,99E-12
Snon_454_illumina_c15450	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	9.96797E-25	Pop Spec	7,89E-10
Snon_454_illumina_c20105	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1.49063E-33	Pop Spec	1,50E-05
Snon_454_illumina_c24220	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	5.44756E-7	Pop Spec	2,59E-05
Snon_454_illumina_c24435	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1.5529E-48	Pop Spec	1,06E-06
Snon_454_illumina_c29060	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	2.88158E-33	Pop Spec	9,36E-21
Snon_454_illumina_rep_c30524	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	2.96847E-39	Pop Spec	7,96E-05
Snon_454_illumina_c31758	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	3.77631E-40	Pop Spec	0,00109677
Snon_454_illumina_c32068	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1.27954E-17	Pop Spec	3,43E-10
Snon_454_illumina_c37561	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	5.65899E-51	Pop Spec	5,41E-16
Snon_454_illumina_c42225	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	9.2983E-6	Pop Spec	6,76E-10
Snon_454_illumina_c48297	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1.63999E-44	Pop Spec	1,11E-13
Snon_454_illumina_c23269	gi 301070170 gb ADK55526.1 polyprotein [Deformed wing virus]	7.10186E-27	Pop Spec	3,60E-05
Snon_454_illumina_c43870	gi 301070170 gb ADK55526.1 polyprotein [Deformed wing virus]	3.18166E-23	Pop Spec	6,44E-17
Snon_454_illumina_rep_c14033	gi 302749279 gb ADL66818.1 polyprotein [Deformed wing virus]	2.94493E-32	Pop Spec	2,00E-09
Snon_454_illumina_c47560	gi 303274645 gb ADM07452.1 major capsid protein [Antheraea mylitta cypovirus 4]	2.11962E-14	Pop Spec	4,42E-12
Snon_454_illumina_c48291	gi 303274645 gb ADM07452.1 major capsid protein [Antheraea mylitta cypovirus 4]	2.0881E-22	Pop Spec	7,47E-10
Snon_454_illumina_c45590	gi 307197059 gb EFN78431.1 Transposable element Tc3 transposase [Harpegnathos saltator]	9.50639E-41	Pop Spec	7,42E-11
Snon_454_illumina_rep_c3610	gi 3115357 gb AAC24317.1 cellular retinoic acid binding protein [Manduca sexta]	7.42589E-44	Pop Spec	1,31E-07
Snon_454_illumina_rep_c49303	gi 312381728 gb EFR27409.1 hypothetical protein AND_05903 [Anopheles darlingi]	1.58271E-113	Pop Spec	7,74E-11
Snon_454_illumina_rep_c49555	gi 318065004 gb ADV36662.1 cytochrome c oxidase subunit Va [Antheraea yamamai]	3.77424E-56	Pop Spec	1,24E-09
Snon_454_illumina_rep_c3617	gi 321457801 gb EFX68881.1 hypothetical protein DAPPUDRAFT_329664 [Daphnia pulex]	5.07723E-62	Pop Spec	3,95E-07
Snon_454_illumina_rep_c26869	gi 322788576 gb EF214204.1 hypothetical protein SINV_11917 [Solenopsis invicta]	1.42289E-12	Pop Spec	7,92E-10
Snon_454_illumina_rep_c4778	gi 323716716 gb ADY05236.1 capsid protein [Deformed wing virus]	1.16848E-38	Pop Spec	2,73E-16
Snon_454_illumina_rep_c12808	gi 325119321 emb CB254875.1 hypothetical protein NCLV_053000 [Neospora caninum Liverpool]	7.51442E-9	Pop Spec	2,18E-08
Snon_454_illumina_rep_c50707	gi 327420498 gb AEA76325.1 C-type lectin [Mamestra configurata]	3.62639E-8	Pop Spec	0,00127176
Snon_454_illumina_rep_c4657	gi 328724371 ref XP_001949043.2 PREDICTED: coiled-coil domain-containing protein 55-like [Acyrtosiphon pisum]	3.62846E-8	Pop Spec	3,22E-06
Snon_454_illumina_rep_c30041	gi 329130223 gb AEB77712.1 juvenile hormone esterase [Helicoverpa armigera]	1.25573E-19	Pop Spec	7,58E-05
Snon_454_illumina_c43504	gi 332139323 gb AEE09607.1 putative DNA helicase [Cotesia vestalis bracovirus]	4.0777E-10	Pop Spec	4,64E-08
Snon_454_illumina_rep_c49569	gi 334303366 gb AEG75845.1 glutathione S-transferase o1 protein [Spodoptera litura]	1.70549E-56	Pop Spec	1,49E-17
Snon_454_illumina_rep_c4007	gi 334855396 gb AEH16629.1 hypothetical protein [Helicoverpa armigera]	2.56349E-60	Pop Spec	1,82E-11
Snon_454_illumina_c35486	gi 336089095 gb AEH99513.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1.04839E-21	Pop Spec	2,20E-20
Snon_454_illumina_c25009	gi 343481903 gb AEM44817.1 unknown [Pectinophora gossypiella]	9.73879E-13	Pop Spec	4,47E-06
Snon_454_illumina_c12066	gi 343796726 gb AEM63700.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	1.05211E-26	Pop Spec	1,40E-11
Snon_454_illumina_c20715	gi 343796726 gb AEM63700.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	2.62034E-44	Pop Spec	1,98E-10
Snon_454_illumina_c21710	gi 343796726 gb AEM63700.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	8.71653E-14	Pop Spec	0,00064317
Snon_454_illumina_c26399	gi 343796726 gb AEM63700.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	3.7712E-22	Pop Spec	1,69E-14
Snon_454_illumina_rep_c30401	gi 343796726 gb AEM63700.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	4.95373E-16	Pop Spec	6,27E-06
Snon_454_illumina_c36978	gi 343796726 gb AEM63700.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	3.70142E-12	Pop Spec	2,22E-09

Snon_454_illumina_c40935	gi 343796726 gb AEM63700.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	2.20077E-39	Pop Spec	2,67E-10
Snon_454_illumina_c41093	gi 343796726 gb AEM63700.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	1.526E-8	Pop Spec	3,24E-08
Snon_454_illumina_c42164	gi 343796726 gb AEM63700.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	7.59232E-13	Pop Spec	4,72E-05
Snon_454_illumina_rep_c11362	gi 343796728 gb AEM63701.1 polyprotein [VDV-1/DWV recombinant 4]	1.27268E-14	Pop Spec	0,00068105
Snon_454_illumina_c22497	gi 343796728 gb AEM63701.1 polyprotein [VDV-1/DWV recombinant 4]	7.52538E-16	Pop Spec	0,00070806
Snon_454_illumina_c27702	gi 343796728 gb AEM63701.1 polyprotein [VDV-1/DWV recombinant 4]	4.19699E-7	Pop Spec	1,24E-05
Snon_454_illumina_c31081	gi 343796728 gb AEM63701.1 polyprotein [VDV-1/DWV recombinant 4]	1.8768E-7	Pop Spec	1,47E-08
Snon_454_illumina_c34826	gi 343796728 gb AEM63701.1 polyprotein [VDV-1/DWV recombinant 4]	1.71993E-8	Pop Spec	0,00022438
Snon_454_illumina_c42369	gi 343796728 gb AEM63701.1 polyprotein [VDV-1/DWV recombinant 4]	5.45547E-18	Pop Spec	0,0004222
Snon_454_illumina_c42769	gi 343796728 gb AEM63701.1 polyprotein [VDV-1/DWV recombinant 4]	1.526E-8	Pop Spec	0,00041061
Snon_454_illumina_c45468	gi 343796728 gb AEM63701.1 polyprotein [VDV-1/DWV recombinant 4]	2.79746E-19	Pop Spec	1,50E-05
Snon_454_illumina_rep_c22238	gi 346470813 gb AEO35251.1 hypothetical protein [Amblyomma maculatum]	7.15898E-7	Pop Spec	1,10E-07
Snon_454_illumina_rep_c49440	gi 346685109 gb AEO46464.1 ribosomal protein S7 [Mythimna separata]	1.34723E-53	Pop Spec	0,00083437
Snon_454_illumina_rep_c14305	gi 347326520 gb AEO79985.1 DNA supercoiling factor [Bombyx mori]	2.01318E-74	Pop Spec	1,10E-18
Snon_454_illumina_rep_c24957	gi 357601811 gb EHJ63159.1 serine protease inhibitor 28 [Danaus plexippus]	4.28168E-28	Pop Spec	1,64E-10
Snon_454_illumina_rep_c35569	gi 357602060 gb EHJ63259.1 f-spondin [Danaus plexippus]	3.24003E-23	Pop Spec	3,27E-06
Snon_454_illumina_rep_c32094	gi 357602312 gb EHJ63337.1 hypothetical protein KGM_10554 [Danaus plexippus]	8.21258E-25	Pop Spec	7,15E-09
Snon_454_illumina_rep_c49175	gi 357602588 gb EHJ63460.1 hypothetical protein KGM_02929 [Danaus plexippus]	7.2266E-23	Pop Spec	7,39E-05
Snon_454_illumina_rep_c11261	gi 357602648 gb EHJ63475.1 hypothetical protein KGM_18272 [Danaus plexippus]	8.85662E-17	Pop Spec	1,59E-08
Snon_454_illumina_rep_c9911	gi 357602874 gb EHJ63550.1 hypothetical protein KGM_00034 [Danaus plexippus]	8.05949E-25	Pop Spec	1,30E-07
Snon_454_illumina_rep_c18434	gi 357602938 gb EHJ63580.1 aminoacylase-1 [Danaus plexippus]	4.26632E-7	Pop Spec	6,05E-05
Snon_454_illumina_rep_c50410	gi 357603059 gb EHJ63620.1 signal recognition particle receptor beta subunit [Danaus plexippus]	1.0909E-41	Pop Spec	5,25E-09
Snon_454_illumina_rep_c2977	gi 357604318 gb EHJ64133.1 putative mrna (guanine-7)-methyltransferase [Danaus plexippus]	2.01864E-66	Pop Spec	5,14E-08
Snon_454_illumina_rep_c46621	gi 357604593 gb EHJ64247.1 putative 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 4 [Danaus plexippus]	3.66887E-19	Pop Spec	3,19E-08
Snon_454_illumina_rep_c28622	gi 357604733 gb EHJ64304.1 hypothetical protein KGM_14094 [Danaus plexippus]	6.00944E-8	Pop Spec	9,13E-10
Snon_454_illumina_rep_c16847	gi 357604966 gb EHJ64403.1 putative meiotic nuclear division 5-like protein A [Danaus plexippus]	8.17903E-27	Pop Spec	0,00014218
Snon_454_illumina_rep_c15871	gi 357605277 gb EHJ64536.1 hypothetical protein KGM_08385 [Danaus plexippus]	7.83675E-62	Pop Spec	7,87E-06
Snon_454_illumina_rep_c15665	gi 357605535 gb EHJ64666.1 putative maintenance of killer 16 protein [Danaus plexippus]	2.30336E-45	Pop Spec	0,00059746
Snon_454_illumina_rep_c9060	gi 357605666 gb EHJ64728.1 hypothetical protein KGM_21778 [Danaus plexippus]	2.12311E-109	Pop Spec	8,74E-11
Snon_454_illumina_rep_c9778	gi 357606253 gb EHJ64979.1 hypothetical protein KGM_19644 [Danaus plexippus]	1.04233E-22	Pop Spec	2,07E-10
Snon_454_illumina_rep_c13414	gi 357606260 gb EHJ64986.1 putative WW domain-binding protein [Danaus plexippus]	7.35671E-28	Pop Spec	0,00051772
Snon_454_illumina_rep_c17968	gi 357606574 gb EHJ65117.1 putative cop9 complex subunit [Danaus plexippus]	5.2799E-42	Pop Spec	0,00025909
Snon_454_illumina_rep_c49710	gi 357606659 gb EHJ65157.1 hypothetical protein KGM_03021 [Danaus plexippus]	8.91404E-51	Pop Spec	6,89E-12
Snon_454_illumina_rep_c4286	gi 357606660 gb EHJ65158.1 putative collagen alpha-2(IV) chain protein [Danaus plexippus]	3.62455E-73	Pop Spec	1,32E-08
Snon_454_illumina_rep_c5791	gi 357607515 gb EHJ65554.1 hypothetical protein KGM_15207 [Danaus plexippus]	6.79705E-50	Pop Spec	3,85E-05
Snon_454_illumina_rep_c49950	gi 357607647 gb EHJ65624.1 hypothetical protein KGM_10104 [Danaus plexippus]	2.0298E-23	Pop Spec	0,00059203
Snon_454_illumina_rep_c22581	gi 357608006 gb EHJ65776.1 putative retin [Danaus plexippus]	5.34059E-41	Pop Spec	5,84E-09
Snon_454_illumina_rep_c50180	gi 357608012 gb EHJ65782.1 hypothetical protein KGM_06029 [Danaus plexippus]	1.06261E-43	Pop Spec	6,75E-08
Snon_454_illumina_rep_c34457	gi 357608120 gb EHJ65833.1 hypothetical protein KGM_08713 [Danaus plexippus]	1.22419E-6	Pop Spec	3,68E-06
Snon_454_illumina_rep_c9709	gi 357608143 gb EHJ65845.1 hypothetical protein KGM_08533 [Danaus plexippus]	4.1007E-37	Pop Spec	0,00052367
Snon_454_illumina_rep_c3648	gi 357608262 gb EHJ65896.1 hexamerin 4 [Danaus plexippus]	3.99225E-44	Pop Spec	0,00108529
Snon_454_illumina_rep_c7290	gi 357608291 gb EHJ65914.1 putative mitochondrial ribosomal protein, L37 [Danaus plexippus]	2.75257E-33	Pop Spec	0,00037164
Snon_454_illumina_rep_c11054	gi 357608316 gb EHJ65928.1 Ecdysteroid-regulated 16 kDa protein [Danaus plexippus]	2.30032E-44	Pop Spec	1,86E-09
Snon_454_illumina_rep_c32709	gi 357608776 gb EHJ66145.1 reverse transcriptase [Danaus plexippus]	3.11203E-11	Pop Spec	2,79E-05
Snon_454_illumina_rep_c5058	gi 357609459 gb EHJ66462.1 hypothetical protein KGM_08221 [Danaus plexippus]	2.33234E-63	Pop Spec	6,37E-09
Snon_454_illumina_rep_c14661	gi 357609692 gb EHJ66580.1 hypothetical protein KGM_01963 [Danaus plexippus]	2.76115E-59	Pop Spec	3,47E-06
Snon_454_illumina_rep_c41364	gi 357610187 gb EHJ66686.1 eIF2B-gamma protein [Danaus plexippus]	9.55841E-23	Pop Spec	0,00050632
Snon_454_illumina_rep_c17766	gi 357610961 gb EHJ67242.1 hypothetical protein KGM_12267 [Danaus plexippus]	4.39181E-77	Pop Spec	3,85E-05
Snon_454_illumina_rep_c17243	gi 357611376 gb EHJ67446.1 ecdysteroid 22-kinase [Danaus plexippus]	2.97329E-41	Pop Spec	2,66E-05
Snon_454_illumina_rep_c19954	gi 357611493 gb EHJ67514.1 hypothetical protein KGM_13045 [Danaus plexippus]	2.36887E-21	Pop Spec	1,05E-05
Snon_454_illumina_rep_c15512	gi 357612154 gb EHJ67845.1 putative parvin [Danaus plexippus]	1.04209E-97	Pop Spec	5,81E-15
Snon_454_illumina_rep_c6370	gi 357612252 gb EHJ67882.1 hypothetical protein KGM_13814 [Danaus plexippus]	3.41448E-49	Pop Spec	4,77E-20
Snon_454_illumina_rep_c39559	gi 357612948 gb EHJ68245.1 hypothetical protein KGM_21550 [Danaus plexippus]	8.44839E-24	Pop Spec	3,13E-13
Snon_454_illumina_rep_c18045	gi 357613600 gb EHJ68608.1 tfIIa large subunit [Danaus plexippus]	4.05757E-42	Pop Spec	7,55E-10
Snon_454_illumina_rep_c7557	gi 357613829 gb EHJ68740.1 hypothetical protein KGM_12263 [Danaus plexippus]	1.58481E-22	Pop Spec	0,00126093
Snon_454_illumina_rep_c5780	gi 357613964 gb EHJ68813.1 spermine synthase [Danaus plexippus]	3.94562E-86	Pop Spec	8,32E-07
Snon_454_illumina_rep_c23515	gi 357614718 gb EHJ69231.1 hypothetical protein KGM_12905 [Danaus plexippus]	1.3811E-10	Pop Spec	0,00096735
Snon_454_illumina_rep_c18135	gi 357615610 gb EHJ69750.1 putative pol-like protein [Danaus plexippus]	2.98225E-13	Pop Spec	6,66E-09
Snon_454_illumina_rep_c17676	gi 357616006 gb EHJ69950.1 putative endomembrane protein emp70 [Danaus plexippus]	2.12191E-62	Pop Spec	1,26E-05
Snon_454_illumina_rep_c11373	gi 357616523 gb EHJ70241.1 putative acyl-CoA oxidase [Danaus plexippus]	6.01842E-30	Pop Spec	0,00037498
Snon_454_illumina_rep_c41166	gi 357616536 gb EHJ70249.1 hypothetical protein KGM_16513 [Danaus plexippus]	1.01816E-37	Pop Spec	0,00126093
Snon_454_illumina_rep_c3765	gi 357616571 gb EHJ70266.1 hypothetical protein KGM_18078 [Danaus plexippus]	7.67312E-17	Pop Spec	1,72E-07
Snon_454_illumina_rep_c6844	gi 357616592 gb EHJ70274.1 hypothetical protein KGM_01042 [Danaus plexippus]	0.0	Pop Spec	0,00030857
Snon_454_illumina_rep_c12322	gi 357616642 gb EHJ70299.1 hypothetical protein KGM_17477 [Danaus plexippus]	2.15737E-77	Pop Spec	2,59E-10
Snon_454_illumina_rep_c17481	gi 357616835 gb EHJ70433.1 hypothetical protein KGM_13411 [Danaus plexippus]	1.01569E-45	Pop Spec	7,59E-08
Snon_454_illumina_rep_c50503	gi 357617119 gb EHJ70595.1 PFTAIRe-interacting factor 1A [Danaus plexippus]	1.69211E-12	Pop Spec	2,08E-08
Snon_454_illumina_rep_c14526	gi 357617197 gb EHJ70645.1 hypothetical protein KGM_15044 [Danaus plexippus]	3.40825E-55	Pop Spec	2,70E-05
Snon_454_illumina_rep_c48890	gi 357617265 gb EHJ70683.1 coiled-coil domain containing 25 protein [Danaus plexippus]	2.29731E-53	Pop Spec	3,09E-06
Snon_454_illumina_rep_c7581	gi 357617794 gb EHJ70996.1 hypothetical protein KGM_04538 [Danaus plexippus]	2.38509E-26	Pop Spec	8,90E-05
Snon_454_illumina_rep_c50859	gi 357618151 gb EHJ71245.1 3-dehydroecdysone 3alpha-reductase [Danaus plexippus]	2.651E-17	Pop Spec	0,00011636
Snon_454_illumina_rep_c17472	gi 357618275 gb EHJ71317.1 hypothetical protein KGM_07282 [Danaus plexippus]	3.42253E-25	Pop Spec	3,55E-18
Snon_454_illumina_rep_c16533	gi 357618300 gb EHJ71336.1 hypothetical protein KGM_14394 [Danaus plexippus]	7.74738E-33	Pop Spec	8,82E-05
Snon_454_illumina_rep_c9007	gi 357618698 gb EHJ71581.1 hypothetical protein KGM_18779 [Danaus plexippus]	6.12244E-22	Pop Spec	1,60E-06
Snon_454_illumina_rep_c12195	gi 357618801 gb EHJ71639.1 eukaryotic translation termination factor 1 [Danaus plexippus]	4.40644E-42	Pop Spec	1,44E-21
Snon_454_illumina_rep_c10469	gi 357619274 gb EHJ71918.1 hypothetical protein KGM_06034 [Danaus plexippus]	1.90885E-31	Pop Spec	4,73E-06
Snon_454_illumina_rep_c2516	gi 357619466 gb EHJ72029.1 hypothetical protein KGM_05129 [Danaus plexippus]	2.44455E-22	Pop Spec	5,01E-07
Snon_454_illumina_c31718	gi 357619891 gb EHJ72291.1 putative piggyBac transposase Uribo1 [Danaus plexippus]	8.37882E-8	Pop Spec	0,00105366
Snon_454_illumina_rep_c4384	gi 357620407 gb EHJ72611.1 hypothetical protein KGM_12872 [Danaus plexippus]	6.82442E-13	Pop Spec	0,00013643
Snon_454_illumina_c49911	gi 357620570 gb EHJ72719.1 mitochondrial ribosomal protein S21 [Danaus plexippus]	3.26035E-23	Pop Spec	0,00034086
Snon_454_illumina_rep_c10806	gi 357620693 gb EHJ72798.1 ced-6 protein [Danaus plexippus]	7.71927E-85	Pop Spec	3,04E-16
Snon_454_illumina_rep_c17227	gi 357620847 gb EHJ72887.1 DNA-directed RNA polymerase subunit 6-like protein [Danaus plexippus]	2.494E-47	Pop Spec	2,20E-21
Snon_454_illumina_rep_c33992	gi 357620905 gb EHJ72924.1 hypothetical protein KGM_19304 [Danaus plexippus]	3.56772E-59	Pop Spec	3,45E-14
Snon_454_illumina_c17450	gi 357621111 gb EHJ73064.1 hypothetical protein KGM_07136 [Danaus plexippus]	0.0	Pop Spec	4,21E-05

Snon_454_Illumina_rep_c29027	gi 357621322 gb EHJ73190.1 hypothetical protein KGM_01089 [Danaus plexippus]	6.6996E-37	Pop Spec	0,00132723
Snon_454_Illumina_rep_c31547	gi 357621618 gb EHJ73393.1 putative o-sialoglycoprotein endopeptidase [Danaus plexippus]	9.32068E-23	Pop Spec	0,00034968
Snon_454_Illumina_rep_c25068	gi 357622224 gb EHJ73788.1 putative sodium pump alpha subunit [Danaus plexippus]	2.38725E-113	Pop Spec	4,94E-10
Snon_454_Illumina_rep_c4414	gi 357622623 gb EHJ74049.1 putative zinc-dependent alcohol dehydrogenase [Danaus plexippus]	1.98184E-159	Pop Spec	0,00069466
Snon_454_Illumina_rep_c29238	gi 357622926 gb EHJ74275.1 putative cornichon protein [Danaus plexippus]	2.33032E-58	Pop Spec	4,92E-05
Snon_454_Illumina_rep_c7458	gi 357623033 gb EHJ74345.1 tubulointerstitial nephritis antigen [Danaus plexippus]	3.23768E-30	Pop Spec	4,74E-07
Snon_454_Illumina_rep_c12379	gi 357623397 gb EHJ74568.1 signal recognition particle 72 kDa protein [Danaus plexippus]	2.31939E-37	Pop Spec	0,00091545
Snon_454_Illumina_rep_c42452	gi 357623761 gb EHJ74786.1 hypothetical protein KGM_19455 [Danaus plexippus]	2.29267E-29	Pop Spec	0,00123967
Snon_454_Illumina_rep_c26924	gi 357623869 gb EHJ74854.1 putative Protein SDA1-like protein [Danaus plexippus]	1.17724E-17	Pop Spec	1,06E-10
Snon_454_Illumina_rep_c20431	gi 357624185 gb EHJ75057.1 sugar transporter [Danaus plexippus]	5.5317E-7	Pop Spec	6,04E-12
Snon_454_Illumina_rep_c7879	gi 357624329 gb EHJ75148.1 hypothetical protein KGM_21424 [Danaus plexippus]	1.20145E-12	Pop Spec	9,93E-23
Snon_454_Illumina_rep_c12470	gi 357624843 gb EHJ75465.1 hypothetical protein KGM_04063 [Danaus plexippus]	1.5445E-47	Pop Spec	1,98E-06
Snon_454_Illumina_rep_c24187	gi 357624973 gb EHJ75546.1 putative Mitogen-activated protein kinase kinase 7 [Danaus plexippus]	9.71879E-53	Pop Spec	4,44E-10
Snon_454_Illumina_rep_c48882	gi 357625250 gb EHJ75755.1 hypothetical protein KGM_01391 [Danaus plexippus]	6.06907E-22	Pop Spec	2,41E-17
Snon_454_Illumina_rep_c10253	gi 357625324 gb EHJ75804.1 putative selenoprotein M [Danaus plexippus]	1.63669E-30	Pop Spec	4,29E-09
Snon_454_Illumina_rep_c8546	gi 357625380 gb EHJ75844.1 hypothetical protein KGM_04050 [Danaus plexippus]	2.13736E-37	Pop Spec	2,48E-10
Snon_454_Illumina_rep_c7055	gi 357625425 gb EHJ75880.1 hypothetical protein KGM_06150 [Danaus plexippus]	2.07558E-25	Pop Spec	5,02E-25
Snon_454_Illumina_rep_c9403	gi 357625425 gb EHJ75880.1 hypothetical protein KGM_06150 [Danaus plexippus]	1.41191E-34	Pop Spec	1,65E-11
Snon_454_Illumina_rep_c49941	gi 357625500 gb EHJ75925.1 sepiapterin reductase [Danaus plexippus]	8.90933E-84	Pop Spec	1,26E-09
Snon_454_Illumina_rep_c7056	gi 357625725 gb EHJ76074.1 troponin C [Danaus plexippus]	1.54842E-80	Pop Spec	8,36E-10
Snon_454_Illumina_rep_c7017	gi 357625938 gb EHJ76210.1 hypothetical protein KGM_08542 [Danaus plexippus]	2.84992E-36	Pop Spec	1,97E-07
Snon_454_Illumina_rep_c14359	gi 357625975 gb EHJ76236.1 hypothetical protein KGM_10596 [Danaus plexippus]	3.08802E-15	Pop Spec	1,15E-12
Snon_454_Illumina_rep_c14322	gi 357625989 gb EHJ76246.1 hypothetical protein KGM_05724 [Danaus plexippus]	4.21555E-57	Pop Spec	0,00145164
Snon_454_Illumina_rep_c14416	gi 357626082 gb EHJ76300.1 putative Ubiquitin-conjugating enzyme E2 J2 [Danaus plexippus]	1.07761E-45	Pop Spec	0,0002071
Snon_454_Illumina_rep_c32763	gi 357626183 gb EHJ76363.1 hypothetical protein KGM_19115 [Danaus plexippus]	6.3139E-26	Pop Spec	4,72E-08
Snon_454_Illumina_rep_c6923	gi 357626853 gb EHJ76765.1 glutamate carboxypeptidase [Danaus plexippus]	4.44731E-87	Pop Spec	5,97E-12
Snon_454_Illumina_rep_c49349	gi 357627517 gb EHJ77188.1 cuticular protein CPFL4A [Danaus plexippus]	5.04859E-8	Pop Spec	3,44E-10
Snon_454_Illumina_rep_c24566	gi 357627831 gb EHJ77382.1 hypothetical protein KGM_06733 [Danaus plexippus]	5.75033E-9	Pop Spec	6,77E-16
Snon_454_Illumina_rep_c49086	gi 357628268 gb EHJ77657.1 protein phosphatase 1 catalytic subunit [Danaus plexippus]	8.15884E-46	Pop Spec	1,08E-07
Snon_454_Illumina_rep_c32892	gi 357628305 gb EHJ77694.1 hypothetical protein KGM_14411 [Danaus plexippus]	2.39948E-10	Pop Spec	1,32E-05
Snon_454_Illumina_rep_c3831	gi 357628669 gb EHJ77924.1 mitochondrial ribosomal protein S9 [Danaus plexippus]	9.2706E-15	Pop Spec	2,03E-06
Snon_454_Illumina_rep_c19396	gi 357629420 gb EHJ78197.1 hypothetical protein KGM_18799 [Danaus plexippus]	1.6256E-28	Pop Spec	2,02E-09
Snon_454_Illumina_rep_c27844	gi 357629633 gb EHJ78276.1 hypothetical protein KGM_09026 [Danaus plexippus]	7.05837E-10	Pop Spec	3,72E-09
Snon_454_Illumina_rep_c50342	gi 357630394 gb EHJ78545.1 putative nuclear autoantigenic sperm protein [Danaus plexippus]	9.93859E-53	Pop Spec	0,00096735
Snon_454_Illumina_rep_c8466	gi 357630898 gb EHJ78717.1 putative protein transport protein sec13 [Danaus plexippus]	9.24533E-71	Pop Spec	1,88E-08
Snon_454_Illumina_rep_c9794	gi 357630923 gb EHJ78731.1 n-acetylglucosamine-6-phosphate deacetylase [Danaus plexippus]	1.07858E-107	Pop Spec	5,66E-08
Snon_454_Illumina_rep_c6188	gi 357631772 gb EHJ79241.1 putative mitochondrial malate dehydrogenase [Danaus plexippus]	7.0698E-23	Pop Spec	6,84E-07
Snon_454_Illumina_rep_c11351	gi 357631822 gb EHJ79289.1 putative CRAL/TRIO domain-containing protein [Danaus plexippus]	1.54306E-52	Pop Spec	4,74E-05
Snon_454_Illumina_rep_c23863	gi 358399224 gb EHK48567.1 hypothetical protein TRIATDRAFT_55198, partial [Trichoderma atroviride IMI 206040]	9.42244E-7	Pop Spec	1,72E-07
Snon_454_Illumina_rep_c30232	gi 365919040 gb AEX07267.1 CSP6 [Helicoverpa armigera]	4.63602E-46	Pop Spec	8,01E-09
Snon_454_Illumina_rep_c13244	gi 374252460 gb AEZ00699.1 nuclear receptor E75 [Spodoptera litura]	3.76246E-40	Pop Spec	1,65E-08
Snon_454_Illumina_rep_c12019	gi 379045803 gb AFC87714.1 Heli-5-tox protein [Helicoverpa armigera]	1.59266E-51	Pop Spec	1,62E-29
Snon_454_Illumina_rep_c3477	gi 383853361 ref XP_003702191.1 PREDICTED: ubiquitin-conjugating enzyme E2 W-like [Megachile rotundata]	6.00223E-67	Pop Spec	0,00141234
Snon_454_Illumina_rep_c10576	gi 383860943 ref XP_003705946.1 PREDICTED: ras-related protein Rap-2c-like [Megachile rotundata]	2.72759E-14	Pop Spec	1,17E-12
Snon_454_Illumina_rep_c50004	gi 385202655 gb AFI47453.1 C-type lectin 8, partial [Helicoverpa armigera]	2.51802E-44	Pop Spec	1,13E-20
Snon_454_Illumina_rep_c51008	gi 387966747 gb AFK14101.1 small heat shock protein 27.2 [Spodoptera litura]	1.00597E-32	Pop Spec	6,04E-07
Snon_454_Illumina_rep_c12022	gi 388327916 gb AFK28501.1 pyruvate kinase [Helicoverpa armigera]	1.7743E-37	Pop Spec	2,92E-23
Snon_454_Illumina_rep_c6308	gi 389608767 dbj BAM17995.1 NADH:ubiquinone dehydrogenase [Papilio xuthus]	1.20342E-46	Pop Spec	9,93E-14
Snon_454_Illumina_rep_c35040	gi 389608911 dbj BAM18067.1 ubiquinol-cytochrome c reductase complex 14 kd protein [Papilio xuthus]	4.12008E-37	Pop Spec	1,93E-10
Snon_454_Illumina_rep_c50177	gi 389609297 dbj BAM18260.1 proteasome 29kD subunit [Papilio xuthus]	1.22601E-102	Pop Spec	4,54E-12
Snon_454_Illumina_rep_c42468	gi 389609311 dbj BAM18267.1 mitochondrial processing peptidase beta subunit [Papilio xuthus]	9.61924E-44	Pop Spec	0,00029622
Snon_454_Illumina_rep_c13697	gi 389609317 dbj BAM18270.1 oligosaccharyltransferase 48kD subunit [Papilio xuthus]	5.17761E-79	Pop Spec	5,03E-09
Snon_454_Illumina_rep_c49266	gi 389609567 dbj BAM18395.1 thioredoxin [Papilio xuthus]	5.65607E-47	Pop Spec	7,85E-08
Snon_454_Illumina_rep_c49999	gi 389609783 dbj BAM18503.1 gelsolin precursor [Papilio xuthus]	2.28193E-32	Pop Spec	7,92E-09
Snon_454_Illumina_rep_c36921	gi 389609829 dbj BAM18526.1 ubiquitin carboxy-terminal hydrolase [Papilio xuthus]	4.29161E-34	Pop Spec	6,36E-06
Snon_454_Illumina_rep_c5612	gi 389609929 dbj BAM18576.1 similar to CG9705 [Papilio xuthus]	1.31643E-36	Pop Spec	1,97E-11
Snon_454_Illumina_rep_c20905	gi 389610139 dbj BAM18681.1 NADH dehydrogenase [Papilio xuthus]	1.99591E-25	Pop Spec	7,25E-06
Snon_454_Illumina_rep_c1388	gi 389610213 dbj BAM18718.1 succinate dehydrogenase C [Papilio xuthus]	5.73104E-59	Pop Spec	1,16E-16
Snon_454_Illumina_rep_c10159	gi 389610317 dbj BAM18770.1 unknown secreted protein [Papilio xuthus]	3.02184E-29	Pop Spec	1,72E-10
Snon_454_Illumina_rep_c5273	gi 389610333 dbj BAM18778.1 quaking related 54B [Papilio xuthus]	7.22418E-34	Pop Spec	5,51E-07
Snon_454_Illumina_rep_c6787	gi 389610367 dbj BAM18795.1 unknown unsecreted protein [Papilio xuthus]	6.81172E-42	Pop Spec	6,18E-05
Snon_454_Illumina_rep_c2991	gi 389610831 dbj BAM19026.1 nascent polypeptide associated complex protein alpha subunit [Papilio polytes]	1.19231E-75	Pop Spec	2,76E-21
Snon_454_Illumina_rep_c7708	gi 389611015 dbj BAM19118.1 membrane steroid binding protein [Papilio polytes]	1.24295E-65	Pop Spec	1,59E-15
Snon_454_Illumina_rep_c8882	gi 389611199 dbj BAM19211.1 transport and golgi organization 7 [Papilio polytes]	5.38008E-66	Pop Spec	1,51E-08
Snon_454_Illumina_rep_c49327	gi 389611411 dbj BAM19317.1 ATP synthase [Papilio polytes]	1.21701E-62	Pop Spec	1,06E-16
Snon_454_Illumina_rep_c8371	gi 389611748 dbj BAM19454.1 unknown secreted protein, partial [Papilio xuthus]	1.16568E-36	Pop Spec	7,25E-12
Snon_454_Illumina_rep_c50248	gi 389611863 dbj BAM19489.1 eukaryotic translation initiation factor 3 subunit K [Papilio xuthus]	1.60219E-28	Pop Spec	9,32E-10
Snon_454_Illumina_rep_c49375	gi 389612033 dbj BAM19547.1 unknown unsecreted protein [Papilio xuthus]	3.97397E-21	Pop Spec	3,11E-10
Snon_454_Illumina_rep_c11660	gi 389612557 dbj BAM19709.1 elongase, partial [Papilio xuthus]	1.99895E-81	Pop Spec	2,20E-05
Snon_454_Illumina_rep_c12428	gi 389612715 dbj BAM19775.1 similar to CG1458 [Papilio xuthus]	8.60109E-39	Pop Spec	0,00050207
Snon_454_Illumina_rep_c50830	gi 389613002 dbj BAM19890.1 similar to CG7182, partial [Papilio xuthus]	3.34879E-20	Pop Spec	2,61E-09
Snon_454_Illumina_rep_c2867	gi 389613055 dbj BAM19910.1 cofactor A [Papilio xuthus]	6.27722E-37	Pop Spec	1,19E-21
Snon_454_Illumina_rep_c13178	gi 389613140 dbj BAM19943.1 tetraspanin 42Ee [Papilio xuthus]	1.0176E-17	Pop Spec	1,53E-06
Snon_454_Illumina_rep_c9969	gi 390190254 gb AFL65634.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1.04378E-25	Pop Spec	5,96E-12
Snon_454_Illumina_rep_c17532	gi 390190254 gb AFL65634.1 polyprotein [Deformed wing virus]	6.1313E-6	Pop Spec	8,29E-09
Snon_454_Illumina_rep_c24820	gi 390190254 gb AFL65634.1 polyprotein [Deformed wing virus]	5.60504E-20	Pop Spec	0,00057124
Snon_454_Illumina_rep_c25523	gi 390190254 gb AFL65634.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1.69749E-8	Pop Spec	0,00012882
Snon_454_Illumina_rep_c26468	gi 390190254 gb AFL65634.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1.85838E-16	Pop Spec	7,13E-07
Snon_454_Illumina_rep_c27891	gi 390190254 gb AFL65634.1 polyprotein [Deformed wing virus]	4.985E-8	Pop Spec	0,00028964
Snon_454_Illumina_rep_c30296	gi 390190254 gb AFL65634.1 polyprotein [Deformed wing virus]	6.53752E-11	Pop Spec	0,00093239
Snon_454_Illumina_rep_c38230	gi 390190254 gb AFL65634.1 polyprotein [Deformed wing virus]	2.82883E-12	Pop Spec	8,35E-08
Snon_454_Illumina_rep_c43238	gi 390190254 gb AFL65634.1 polyprotein [Deformed wing virus]	9.33686E-8	Pop Spec	0,00131612
Snon_454_Illumina_rep_c44214	gi 390190254 gb AFL65634.1 polyprotein [Deformed wing virus]	2.09718E-14	Pop Spec	7,86E-14

Snon_454_illumina_c46616	gi 390190254 gb AFL65634.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1.56282E-9	Pop Spec	7,09E-06
Snon_454_illumina_rep_c2454	gi 401334 sp P31403.1 VATL_MANSERecName: Full=V-type proton ATPase 16 kDa proteolipid subunit; Short=V-ATPase 16 kDa proteolipid subunit; AltName: Full=Vacuolar proton pump 16 kDa proteolipid subunit	2.597E-78	Pop Spec	5,32E-20
Snon_454_illumina_rep_c11393	gi 44977166 gb AAS49924.1 circadian clock protein period [Mamestra brassicae]	1.29769E-60	Pop Spec	2,36E-08
Snon_454_illumina_rep_c5650	gi 47177089 ref YP_015696.1 polyprotein [Kakugo virus]	1.21036E-38	Pop Spec	3,70E-23
Snon_454_illumina_c47919	gi 479443 pir J533901reverse transcriptase - silkworm transposon Pao	3.09569E-66	Pop Spec	1,33E-09
Snon_454_illumina_rep_c8186	gi 50293095 gb AAT72922.1 sterol carrier protein 2/3-oxoacyl-CoA thiolase [Spodoptera littoralis]	2.61255E-67	Pop Spec	1,52E-19
Snon_454_illumina_rep_c13079	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	4.79752E-43	Pop Spec	4,61E-10
Snon_454_illumina_c16083	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	7.99809E-22	Pop Spec	0,00030857
Snon_454_illumina_c25122	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	3.26351E-49	Pop Spec	1,36E-05
Snon_454_illumina_rep_c29132	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	2.51791E-14	Pop Spec	1,58E-07
Snon_454_illumina_rep_c30146	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	3.40862E-41	Pop Spec	9,35E-11
Snon_454_illumina_c31026	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	3.06739E-42	Pop Spec	0,00047025
Snon_454_illumina_rep_c35630	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	1.36936E-21	Pop Spec	8,58E-12
Snon_454_illumina_c36582	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	3.90327E-24	Pop Spec	1,76E-11
Snon_454_illumina_c42469	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	1.63342E-45	Pop Spec	6,96E-17
Snon_454_illumina_rep_c43332	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	2.28139E-24	Pop Spec	3,84E-12
Snon_454_illumina_c44328	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	2.60521E-25	Pop Spec	7,14E-06
Snon_454_illumina_c47671	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	7.44387E-22	Pop Spec	0,00021405
Snon_454_illumina_rep_c49188	gi 56462138 gb AAV91352.1 hypothetical protein 1 [Lonomia obliqua]	7.53124E-41	Pop Spec	7,89E-12
Snon_454_illumina_rep_c9073	gi 61660433 gb AA51193.1 HacD [Helicoverpa armigera]	2.9197E-18	Pop Spec	3,84E-19
Snon_454_illumina_rep_c13496	gi 6273851 gb AAF06364.1 polyprotein [Drosophila willistoni]	6.54048E-8	Pop Spec	1,41E-09
Snon_454_illumina_c34275	gi 84801 pir J508405hypothetical protein 2 - silkworm transposon mag	7.52552E-12	Pop Spec	3,96E-16
Snon_454_illumina_c37843	gi 91068270 gb ABE04037.1 polyprotein [Deformed wing virus]	8.83812E-10	Pop Spec	2,68E-13
Snon_454_illumina_c44032	gi 91068270 gb ABE04037.1 polyprotein [Deformed wing virus]	8.35941E-16	Pop Spec	1,64E-05
Snon_454_illumina_rep_c8924	gi 91085651 ref XP_970979.1 PREDICTED: similar to putative secreted salivary protein [Tribolium castaneum]	6.93284E-49	Pop Spec	5,37E-06
Snon_454_illumina_rep_c10370	gi 91087353 ref XP_975616.1 PREDICTED: similar to conserved hypothetical protein [Tribolium castaneum]	1.87134E-44	Pop Spec	0,00059724
Snon_454_illumina_rep_c2807	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	6.4361E-27	3648,04	1,69E-40
Snon_454_illumina_rep_c4214	gi 186703383 gb ACC91898.1 hemolin [Helicoverpa zea]	9.36826E-165	3565,36	7,18E-40
Snon_454_illumina_rep_c1	gi 301070170 gb ADK55526.1 polyprotein [Deformed wing virus]	4.27277E-46	2003,33	1,18E-62
Snon_454_illumina_rep_c364	gi 389610961 dbj BAM19091.1 thioredoxin-2 [Papilio polytes]	2.86362E-48	2000,49	3,64E-34
Snon_454_illumina_rep_c2887	gi 307205624 gb EFN83910.1 hypothetical protein EAI_07685 [Harpegnathos saltator]	7.17731E-75	1726,23	2,95E-16
Snon_454_illumina_rep_c989	gi 38371702 ref NP_941973.1 RNA polymerase [Uukuniemi virus]	5.09516E-58	1670,15	7,32E-61
Snon_454_illumina_rep_c32726	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1.01246E-46	1620,94	8,57E-61
Snon_454_illumina_rep_c3239	gi 156891151 gb ABU96713.1 diapausin precursor [Spodoptera litura]	2.62751E-17	1586,95	8,13E-16
Snon_454_illumina_rep_c277	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	4.58899E-106	1586,67	1,10E-42
Snon_454_illumina_rep_c5221	gi 371571161 emb CCF23426.1 Protein LEA-1, isoform k [Caenorhabditis elegans]	5.41331E-12	1558,21	5,66E-32
Snon_454_illumina_rep_c2	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	0.0	1522,74	4,99E-61
Snon_454_illumina_rep_c11837	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	6.26155E-67	1472,00	9,75E-31
Snon_454_illumina_rep_c587	gi 157168007 ref XP_001663283.1 ribophorin [Aedes aegypti]	5.99249E-76	1470,69	9,73E-31
Snon_454_illumina_rep_c8081	gi 354549523 gb AER27818.1 cuticular protein RR-1 motif 32 [Antheraea yamamai]	2.95339E-32	1333,46	6,97E-30
Snon_454_illumina_rep_c21	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	0.0	1240,50	4,36E-52
Snon_454_illumina_rep_c48777	gi 238915956 gb ACR78447.1 lebocin-like antibacterial protein [Heliothis virescens]	6.80495E-21	1182,75	1,89E-07
Snon_454_illumina_rep_c50379	gi 357622059 gb EHJ73675.1 putative secreted peptide 30 [Danaus plexippus]	4.2221E-28	1090,79	4,22E-27
Snon_454_illumina_rep_c20	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	0.0	1003,58	2,58E-52
Snon_454_illumina_rep_c6835	gi 154126219 gb ABS59653.1 prophenoloxidase [Spodoptera exigua]	4.35361E-168	966,79	7,47E-42
Snon_454_illumina_rep_c3452	gi 114052116 ref NP_001040454.1 ML-domain containing secreted protein precursor [Bombyx mori]	1.66764E-37	956,47	6,19E-26
Snon_454_illumina_rep_c15673	gi 114051415 ref NP_001040315.1 glutamyl-tRNA amidotransferase subunit B [Bombyx mori]	2.81496E-98	928,19	4,21E-26
Snon_454_illumina_rep_c21140	gi 380473522 emb CCF46246.1 hypothetical protein CH063_15059, partial [Colletotrichum higginsianum]	6.04843E-6	902,67	2,83E-16
Snon_454_illumina_c33564	gi 114842189 dbj BAF32579.1 polyprotein [Kakugo virus]	1.38265E-16	885,98	4,06E-14
Snon_454_illumina_c28896	gi 114842233 dbj BAF32601.1 polyprotein [Kakugo virus]	6.33786E-21	879,25	5,40E-14
Snon_454_illumina_rep_c2155	gi 112983550 ref NP_001036879.1 nimrod B precursor [Bombyx mori]	1.84606E-56	862,66	5,19E-40
Snon_454_illumina_rep_c6414	gi 94471737 gb ABF21088.1 period [Bombyx mori]	9.18823E-39	856,74	4,60E-39
Snon_454_illumina_rep_c37469	gi 357621846 gb EHJ73531.1 hypothetical protein KGM_14123 [Danaus plexippus]	2.29514E-42	810,71	1,38E-24
Snon_454_illumina_rep_c5910	gi 7272336 gb AAF44717.1 L47123_1ferritin [Manduca sexta]	3.10358E-97	703,57	1,82E-13
Snon_454_illumina_rep_c13032	gi 17940776 gb AAL49765.1 AF453868_1hemolin [Lymantria dispar]	1.06424E-69	700,79	5,83E-23
Snon_454_illumina_rep_c49774	gi 114842189 dbj BAF32579.1 polyprotein [Kakugo virus]	2.18368E-29	688,53	7,33E-13
Snon_454_illumina_rep_c2448	gi 15290529 gb AAK94897.1 AF281654_1mrRNA cap-binding protein eIF4E [Spodoptera frugiperda]	2.46531E-120	684,40	8,60E-32
Snon_454_illumina_rep_c5913	gi 389611892 dbj BAM19502.1 vacuolar H[+] ATPase G-subunit [Papilio xuthus]	2.96253E-30	653,75	3,31E-05
Snon_454_illumina_rep_c48742	gi 25090166 sp Q8TOW8.1 DIAP_GASATRecName: Full=Diapause-specific peptide; Short=DSP; AltName: Full=Diapausin; Flags: Precursor	2.82416E-11	633,74	1,38E-11
Snon_454_illumina_rep_c1335	gi 307197722 gb EFN78871.1 hypothetical protein EAI_02279 [Harpegnathos saltator]	8.65486E-35	632,18	2,66E-41
Snon_454_illumina_rep_c50490	gi 186703383 gb ACC91898.1 hemolin [Helicoverpa zea]	9.01902E-65	611,57	4,06E-05
Snon_454_illumina_rep_c4923	gi 363497927 gb AEW24427.1 defensin [Spodoptera exigua]	4.55437E-36	610,01	3,55E-21
Snon_454_illumina_rep_c1112	gi 210111440 gb ACI07154.1 calreticulin [Pieris rapae]	7.11217E-31	604,14	3,51E-07
Snon_454_illumina_rep_c110	gi 21759389 sp Q962U1.1 RL13_SPOFRRecName: Full=60S ribosomal protein L13	1.66942E-80	591,32	6,16E-47
Snon_454_illumina_rep_c10592	gi 268306466 gb ACY95354.1 ribosomal protein L7A [Manduca sexta]	1.30965E-61	574,53	4,77E-13
Snon_454_illumina_rep_c3037	gi 357602585 gb EHJ63457.1 putative thioredoxin reductase isoform 2 [Danaus plexippus]	1.28167E-69	565,06	6,68E-15
Snon_454_illumina_c28425	gi 241998968 ref XP_002434127.1 secreted protein [Ixodes scapularis]	1.11739E-7	561,08	2,01E-19
Snon_454_illumina_rep_c12168	gi 357609042 gb EHJ66263.1 hypothetical protein KGM_13180 [Danaus plexippus]	1.02849E-14	545,18	4,63E-20
Snon_454_illumina_rep_c3108	gi 166014096 gb ABA54273.2 90 kDa heat shock protein 83 [Sesamia nagarioides]	0.0	541,44	3,49E-44
Snon_454_illumina_rep_c50376	gi 378725098 gb AFC35302.1 diapause associated protein 3 [Antheraea pernyi]	1.45937E-15	534,92	3,31E-35
Snon_454_illumina_rep_c34969	gi 81248546 gb ABB69054.1 cytochrome P450 [Helicoverpa armigera]	4.55319E-18	517,96	2,05E-12
Snon_454_illumina_rep_c49964	gi 389609619 dbj BAM18421.1 unknown secreted protein [Papilio xuthus]	1.59677E-30	505,03	7,47E-12
Snon_454_illumina_rep_c9909	gi 110347835 gb ABG72719.1 protease inhibitor-like protein [Antheraea mylitta]	1.71612E-8	Pop Spec	9,16E-08
Snon_454_illumina_rep_c22043	gi 110826028 gb ABH01082.1 esterase [Sesamia nagarioides]	9.21778E-59	Pop Spec	7,13E-10
Snon_454_illumina_rep_c4024	gi 112982938 ref NP_001037099.1 chorion B-ZIP transcription factor [Bombyx mori]	1.50424E-36	Pop Spec	1,62E-19
Snon_454_illumina_rep_c49870	gi 112982972 ref NP_001037674.1 transport protein Sec61 gamma subunit [Bombyx mori]	4.59029E-22	Pop Spec	1,35E-18
Snon_454_illumina_rep_c49400	gi 112983032 ref NP_001037075.1 calreticulin precursor [Bombyx mori]	4.17629E-29	Pop Spec	5,47E-12
Snon_454_illumina_rep_c4660	gi 112983082 ref NP_001037668.1 cytosolic juvenile hormone binding protein 36 kDa subunit [Bombyx mori]	9.23436E-55	Pop Spec	3,24E-08
Snon_454_illumina_rep_c48781	gi 112983348 ref NP_001036999.1 glutathione peroxidase [Bombyx mori]	7.4856E-86	Pop Spec	8,65E-09
Snon_454_illumina_rep_c12942	gi 114051191 ref NP_001040386.1 peroxiredoxin [Bombyx mori]	3.51595E-22	Pop Spec	1,75E-05
Snon_454_illumina_rep_c19389	gi 114051243 ref NP_001040382.1 FK506-binding protein [Bombyx mori]	2.5909E-55	Pop Spec	7,79E-14
Snon_454_illumina_rep_c10781	gi 114051449 ref NP_001040367.1 prolactin regulatory binding-element protein [Bombyx mori]	3.06337E-21	Pop Spec	3,07E-05
Snon_454_illumina_rep_c49042	gi 114051904 ref NP_001040434.1 F-actin capping protein beta subunit [Bombyx mori]	1.13745E-43	Pop Spec	5,12E-06

Snon_454_illumina_rep_c46924	gi 114052188 ref NP_001040463.1 transcription initiation factor IIA gamma chain [Bombyx mori]	1.42081E-10	Pop Spec	0,00018146
Snon_454_illumina_rep_c1865	gi 114052472 ref NP_001040479.1 peptidylprolyl isomerase B precursor [Bombyx mori]	1.33412E-84	Pop Spec	9,82E-10
Snon_454_illumina_rep_c40992	gi 114052803 ref NP_001040277.1 salivary cysteine-rich peptide precursor [Bombyx mori]	1.51965E-20	Pop Spec	7,86E-06
Snon_454_illumina_rep_c48984	gi 116788150 gb ABK24774.1 unknown [Picea sitchensis]	2.29976E-8	Pop Spec	2,69E-05
Snon_454_illumina_rep_c49056	gi 118779179 ref XP_309109.2 AGAP000927-PA [Anopheles gambiae str. PEST]	5.04777E-60	Pop Spec	5,31E-05
Snon_454_illumina_rep_c49498	gi 121485829 gb ABM54824.1 general odorant-binding protein GOBP2 [Spodoptera litura]	5.04329E-45	Pop Spec	3,67E-05
Snon_454_illumina_rep_c25556	gi 148298880 ref NP_001091805.1 uncharacterized protein LOC778510 [Bombyx mori]	6.25125E-51	Pop Spec	0,00066126
Snon_454_illumina_rep_c51311	gi 15213788 gb AAK92169.1 AF400197_1ribosomal protein L35A [Spodoptera frugiperda]	4.30601E-20	Pop Spec	0,00013594
Snon_454_illumina_rep_c48966	gi 156891151 gb ABU97613.1 diapausin precursor [Spodoptera litura]	2.62751E-17	Pop Spec	4,07E-05
Snon_454_illumina_rep_c14641	gi 156968297 gb ABU98620.1 unknown [Helicoverpa armigera]	4.23811E-62	Pop Spec	4,03E-06
Snon_454_illumina_rep_c49252	gi 157704347 gb ABV68862.1 lysozyme [Trichoplusia ni]	1.1493E-36	Pop Spec	7,52E-07
Snon_454_illumina_rep_c6796	gi 158186774 ref NP_001103403.1 AMP-activated protein kinase beta subunit [Bombyx mori]	2.85781E-70	Pop Spec	8,62E-06
Snon_454_illumina_rep_c12155	gi 164448650 ref NP_001106737.1 high mobility group protein A [Bombyx mori]	9.84217E-15	Pop Spec	2,64E-09
Snon_454_illumina_rep_c8592	gi 170028857 ref XP_001842311.1 hypothetical protein Cpip_CPIU000746 [Culex quinquefasciatus]	2.6209E-9	Pop Spec	8,65E-05
Snon_454_illumina_rep_c49076	gi 18479021 gb AAL73387.1 AF409102_13-dehydroecdysone 3b-reductase [Trichoplusia ni]	2.0973E-26	Pop Spec	0,00030968
Snon_454_illumina_rep_c4453	gi 189238710 ref XP_969341.2 PREDICTED: similar to AGAP009638-PA [Tribolium castaneum]	8.48654E-67	Pop Spec	5,95E-07
Snon_454_illumina_rep_c48800	gi 192763882 gb ACF05615.1 actin 3 [Bombyx mandarina]	7.15646E-127	Pop Spec	2,27E-14
Snon_454_illumina_rep_c5149	gi 195046787 ref XP_001992218.1 GH24632 [Drosophila grimshawi]	3.6487E-19	Pop Spec	0,00017733
Snon_454_illumina_rep_c14138	gi 20269944 gb AAM18116.1 AF497849_1yolk protein 3 [Hyphantria cunea]	6.15072E-6	Pop Spec	1,26E-09
Snon_454_illumina_rep_c31980	gi 20269944 gb AAM18116.1 AF497849_1yolk protein 3 [Hyphantria cunea]	4.94416E-6	Pop Spec	1,29E-07
Snon_454_illumina_rep_c5066	gi 207107802 dbj BAG71920.1 chemosensory protein 12 [Papilio xuthus]	3.56286E-30	Pop Spec	2,57E-16
Snon_454_illumina_rep_c49315	gi 207107802 dbj BAG71920.1 chemosensory protein 12 [Papilio xuthus]	5.59921E-28	Pop Spec	0,00144494
Snon_454_illumina_rep_c11955	gi 228937 prf 1814452BHyp-rich glycoprotein	6.10455E-13	Pop Spec	1,37E-06
Snon_454_illumina_rep_c48866	gi 229577383 ref NP_001153366.1 ATP synthase subunit beta, mitochondrial [Nasonia vitripennis]	1.66143E-113	Pop Spec	3,28E-05
Snon_454_illumina_rep_c49880	gi 238915967 gb ACR78450.1 hemicentin-like protein [Heliothis virescens]	2.62182E-41	Pop Spec	4,37E-05
Snon_454_illumina_rep_c21542	gi 24181418 gb AAL48300.1 cytochrome P450 CYP4L4 [Mamestra brassicae]	1.02395E-109	Pop Spec	3,77E-06
Snon_454_illumina_rep_c20906	gi 255652863 ref NP_001157372.1 odorant binding protein fmxg18C17 precursor [Bombyx mori]	1.7926E-13	Pop Spec	2,05E-09
Snon_454_illumina_rep_c48824	gi 26007526 gb AAF71290.2 AF255919_1chemosensory protein [Mamestra brassicae]	5.06794E-55	Pop Spec	0,00140136
Snon_454_illumina_rep_c11634	gi 260907902 gb ACX53752.1 short-chain dehydrogenase [Heliothis virescens]	1.63737E-33	Pop Spec	2,23E-07
Snon_454_illumina_rep_c4857	gi 260907912 gb ACX53757.1 DUF233 protein [Heliothis virescens]	7.58133E-49	Pop Spec	8,02E-07
Snon_454_illumina_rep_c19259	gi 260907912 gb ACX53757.1 DUF233 protein [Heliothis virescens]	5.0283E-53	Pop Spec	8,74E-06
Snon_454_illumina_rep_c39454	gi 260907988 gb ACX53793.1 DUF233 protein [Heliothis virescens]	3.67376E-11	Pop Spec	3,61E-10
Snon_454_illumina_rep_c50579	gi 260907994 gb ACX53796.1 DUF233 protein [Heliothis virescens]	1.40979E-10	Pop Spec	0,0002174
Snon_454_illumina_rep_c51505	gi 260907998 gb ACX53798.1 aldo-keto reductase [Heliothis virescens]	2.4815E-47	Pop Spec	3,30E-10
Snon_454_illumina_rep_c48901	gi 260908002 gb ACX53800.1 chemosensory protein [Heliothis virescens]	1.5294E-41	Pop Spec	6,38E-10
Snon_454_illumina_rep_c51442	gi 260908014 gb ACX53806.1 chemosensory protein [Heliothis virescens]	5.36777E-18	Pop Spec	5,82E-08
Snon_454_illumina_rep_c26259	gi 262527588 gb ACV69027.1 mutant cadherin [Helicoverpa armigera]	8.20219E-8	Pop Spec	8,03E-05
Snon_454_illumina_rep_c23446	gi 269931703 gb ACZ54371.1 sterol carrier protein 2/3-oxoacyl-CoA thiolase [Spodoptera litura]	5.18824E-29	Pop Spec	3,21E-10
Snon_454_illumina_rep_c19295	gi 270012565 gb EFA09013.1 hypothetical protein TcasGA2_TC006721 [Tribolium castaneum]	4.32718E-11	Pop Spec	0,000131
Snon_454_illumina_rep_c48799	gi 27388671 gb AAB894559.1 hemocyte protease-3 [Manduca sexta]	2.07119E-71	Pop Spec	0,00030366
Snon_454_illumina_rep_c8671	gi 289719016 gb ADD17089.1 glutathione S-transferase [Helicoverpa armigera]	3.40295E-87	Pop Spec	5,85E-15
Snon_454_illumina_rep_c51467	gi 302347126 gb ADL27731.1 gloverin [Spodoptera exigua]	3.62934E-14	Pop Spec	1,99E-07
Snon_454_illumina_rep_c10776	gi 304423112 gb ADM32901.1 inhibitor of apoptosis protein [Helicoverpa armigera]	2.15204E-58	Pop Spec	1,39E-09
Snon_454_illumina_rep_c5422	gi 307197722 gb EFN78871.1 hypothetical protein EAI_02279 [Harpegnathos saltator]	9.392E-31	Pop Spec	3,80E-13
Snon_454_illumina_rep_c30196	gi 308464207 ref XP_003094372.1 hypothetical protein CRE_07785 [Caenorhabditis remanei]	3.10994E-10	Pop Spec	1,67E-14
Snon_454_illumina_rep_c8284	gi 3115357 gb AAC24317.1 cellular retinoic acid binding protein [Manduca sexta]	5.71898E-44	Pop Spec	5,37E-13
Snon_454_illumina_rep_c50533	gi 312451917 gb ADQ86007.1 death-associated LIM-only protein [Helicoverpa armigera]	1.41948E-78	Pop Spec	6,69E-10
Snon_454_illumina_rep_c15760	gi 321442097 gb ADW85463.1 ala-tRNA synthetase, partial [Spodoptera frugiperda]	1.34959E-69	Pop Spec	0,00133673
Snon_454_illumina_rep_c40622	gi 326578747 gb ADZ95926.1 reverse transcriptase [Mesosemia lamachus]	5.35718E-10	Pop Spec	0,00073117
Snon_454_illumina_rep_c27378	gi 327358395 gb AEA51044.1 apoptogenic 1 isoform 2, partial [Oryzias melastigma]	4.69378E-6	Pop Spec	0,00110983
Snon_454_illumina_rep_c7639	gi 327420498 gb AEA76325.1 C-type lectin [Mamestra configurata]	3.68738E-60	Pop Spec	3,27E-10
Snon_454_illumina_rep_c49974	gi 327420498 gb AEA76325.1 C-type lectin [Mamestra configurata]	3.32264E-20	Pop Spec	8,84E-15
Snon_454_illumina_rep_c50599	gi 327420498 gb AEA76325.1 C-type lectin [Mamestra configurata]	6.06982E-22	Pop Spec	0,00027097
Snon_454_illumina_rep_c7558	gi 328670879 gb AEB26316.1 heat shock protein 105 [Helicoverpa armigera]	1.54188E-41	Pop Spec	2,51E-06
Snon_454_illumina_rep_c14325	gi 328724371 ref XP_001949043.2 PREDICTED: coiled-coil domain-containing protein 55-like [Acyrtosiphon pisum]	1.62722E-6	Pop Spec	0,00033073
Snon_454_illumina_rep_c50572	gi 334303360 gb AEG75842.1 glutathione S-transferase s1 protein [Spodoptera litura]	1.90046E-39	Pop Spec	6,97E-12
Snon_454_illumina_rep_c26140	gi 338826806 ref YP_004678721.1 VP [Helicoverpa armigera densovirus]	1.5672E-106	Pop Spec	7,29E-17
Snon_454_illumina_rep_c30139	gi 338858968 gb AEJ33048.1 adipose triglyceride lipase [Manduca sexta]	4.2617E-31	Pop Spec	8,97E-05
Snon_454_illumina_rep_c14475	gi 339283900 gb AEJ38219.1 elongation factor [Spodoptera exigua]	2.4886E-39	Pop Spec	4,52E-08
Snon_454_illumina_rep_c27672	gi 339283910 gb AEJ38224.1 period [Spodoptera exigua]	3.56024E-6	Pop Spec	6,44E-10
Snon_454_illumina_rep_c23785	gi 339830956 gb AEK20839.1 caspase-6 [Heliothis virescens]	1.6566E-11	Pop Spec	4,93E-06
Snon_454_illumina_rep_c8458	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	4.06951E-15	Pop Spec	9,74E-09
Snon_454_illumina_rep_c13464	gi 347968745 ref XP_312029.3 AGAP002884-PA [Anopheles gambiae str. PEST]	1.28459E-129	Pop Spec	2,20E-10
Snon_454_illumina_rep_c18368	gi 356959679 gb AET43033.1 aminoacylase 1 [Spodoptera frugiperda]	2.23655E-66	Pop Spec	0,00124838
Snon_454_illumina_rep_c10801	gi 357602060 gb EHJ63259.1 f-spondin [Danaus plexippus]	1.25544E-20	Pop Spec	0,00147143
Snon_454_illumina_rep_c8396	gi 357603257 gb EHJ63678.1 BAG domain-containing protein Samui [Danaus plexippus]	5.2484E-38	Pop Spec	1,28E-12
Snon_454_illumina_rep_c38676	gi 357603461 gb EHJ63790.1 endonuclease-reverse transcriptase [Danaus plexippus]	3.9551E-13	Pop Spec	0,00105895
Snon_454_illumina_rep_c12214	gi 357604661 gb EHJ64279.1 putative coracle [Danaus plexippus]	2.20539E-55	Pop Spec	0,00018256
Snon_454_illumina_rep_c50679	gi 357605007 gb EHJ64421.1 hypothetical protein KGM_02094 [Danaus plexippus]	1.93443E-36	Pop Spec	1,67E-06
Snon_454_illumina_rep_c7930	gi 357605535 gb EHJ64666.1 putative maintenance of killer 16 protein [Danaus plexippus]	3.41595E-67	Pop Spec	3,44E-09
Snon_454_illumina_rep_c7110	gi 357606925 gb EHJ65285.1 NADH dehydrogenase [Danaus plexippus]	3.66433E-59	Pop Spec	7,25E-10
Snon_454_illumina_rep_c44865	gi 357606925 gb EHJ65285.1 NADH dehydrogenase [Danaus plexippus]	5.54243E-54	Pop Spec	8,98E-06
Snon_454_illumina_rep_c9827	gi 357607509 gb EHJ65548.1 kettin protein [Danaus plexippus]	1.87286E-82	Pop Spec	0,00013713
Snon_454_illumina_rep_c24880	gi 357607522 gb EHJ65561.1 hypothetical protein KGM_15149 [Danaus plexippus]	4.25477E-31	Pop Spec	0,00143589
Snon_454_illumina_rep_c25937	gi 357607966 gb EHJ65765.1 hypothetical protein KGM_04956 [Danaus plexippus]	5.03496E-24	Pop Spec	0,00089833
Snon_454_illumina_rep_c12711	gi 357608069 gb EHJ65806.1 hypothetical protein KGM_13851 [Danaus plexippus]	7.28458E-58	Pop Spec	3,17E-05
Snon_454_illumina_rep_c19064	gi 357608069 gb EHJ65806.1 hypothetical protein KGM_13851 [Danaus plexippus]	1.03451E-42	Pop Spec	7,36E-07
Snon_454_illumina_rep_c17045	gi 357608394 gb EHJ65972.1 hypothetical protein KGM_03228 [Danaus plexippus]	9.10919E-10	Pop Spec	7,98E-08
Snon_454_illumina_rep_c12330	gi 357608658 gb EHJ66083.1 hypothetical protein KGM_00604 [Danaus plexippus]	5.54256E-27	Pop Spec	0,00028839
Snon_454_illumina_rep_c9237	gi 357609047 gb EHJ66268.1 putative guanylate cyclase [Danaus plexippus]	2.54304E-61	Pop Spec	0,00024395
Snon_454_illumina_rep_c49218	gi 357609101 gb EHJ66300.1 nascent polypeptide associated complex protein alpha subunit [Danaus plexippus]	2.34417E-40	Pop Spec	3,98E-08
Snon_454_illumina_rep_c49688	gi 357610630 gb EHJ67069.1 glycoside hydrolase [Danaus plexippus]	2.24793E-8	Pop Spec	5,81E-10
Snon_454_illumina_rep_c1488	gi 357610961 gb EHJ67242.1 hypothetical protein KGM_12267 [Danaus plexippus]	3.82074E-35	Pop Spec	0,00056879
Snon_454_illumina_rep_c4117	gi 357611165 gb EHJ67341.1 putative anarchy 1 [Danaus plexippus]	5.65022E-105	Pop Spec	0,00067067
Snon_454_illumina_rep_c26092	gi 357611230 gb EHJ67381.1 hypothetical protein KGM_13834 [Danaus plexippus]	4.83483E-19	Pop Spec	0,00116157
Snon_454_illumina_rep_c10418	gi 357611557 gb EHJ67543.1 TPAputative cuticle protein [Danaus plexippus]	2.93811E-40	Pop Spec	0,00032816
Snon_454_illumina_rep_c8729	gi 357612153 gb EHJ67844.1 hypothetical protein KGM_02546 [Danaus plexippus]	3.23306E-7	Pop Spec	1,07E-05
Snon_454_illumina_rep_c13602	gi 357612252 gb EHJ67882.1 hypothetical protein KGM_13814 [Danaus plexippus]	5.50256E-39	Pop Spec	1,16E-05
Snon_454_illumina_rep_c8728	gi 357612385 gb EHJ67955.1 hypothetical protein KGM_11351 [Danaus plexippus]	3.58061E-6	Pop Spec	1,07E-06
Snon_454_illumina_rep_c38413	gi 357613248 gb EHJ68400.1 hypothetical protein KGM_16590 [Danaus plexippus]	1.18907E-23	Pop Spec	5,18E-09
Snon_454_illumina_rep_c47106	gi 357613321 gb EHJ68432.1 hypothetical protein KGM_22037 [Danaus plexippus]	1.31786E-8	Pop Spec	0,00026958
Snon_454_illumina_rep_c50761	gi 357613410 gb EHJ68492.1 putative ubiquitin-binding protein [Danaus plexippus]	1.96399E-15	Pop Spec	1,38E-07
Snon_454_illumina_rep_c22021	gi 357613416 gb EHJ68496.1 hypothetical protein KGM_06579 [Danaus plexippus]	1.20807E-30	Pop Spec	8,61E-05
Snon_454_illumina_rep_c5752	gi 357613521 gb EHJ68563.1 hypothetical protein KGM_03855 [Danaus plexippus]	1.30487E-32	Pop Spec	0,00136371
Snon_454_illumina_rep_c24564	gi 357613611 gb EHJ68614.1 general control of amino acid synthesis-like protein [Danaus plexippus]	2.9017E-9	Pop Spec	3,92E-05

Snon_454_illumina_rep_c12710	gi 357613903 gb EHJ68776.1 putative Inositol polyphosphate-1-phosphatase [Danaus plexippus]	1.60857E-26	Pop Spec	3,90E-05
Snon_454_illumina_rep_c49492	gi 357614028 gb EHJ68864.1 N-acetyltransferase [Danaus plexippus]	2.20638E-24	Pop Spec	1,34E-06
Snon_454_illumina_rep_c51474	gi 357614324 gb EHJ69021.1 16 kDa salivary protein [Danaus plexippus]	4.02162E-26	Pop Spec	5,30E-08
Snon_454_illumina_rep_c23377	gi 357614383 gb EHJ69050.1 hypothetical protein KGM_16548 [Danaus plexippus]	2.78175E-19	Pop Spec	7,64E-07
Snon_454_illumina_rep_c7345	gi 357614994 gb EHJ69416.1 hypothetical protein KGM_16370 [Danaus plexippus]	8.04277E-22	Pop Spec	3,42E-06
Snon_454_illumina_rep_c9802	gi 357615518 gb EHJ69704.1 hypothetical protein KGM_05560 [Danaus plexippus]	4.94711E-56	Pop Spec	7,98E-08
Snon_454_illumina_rep_c43244	gi 357615592 gb EHJ69738.1 protein tyrosine phosphatase [Danaus plexippus]	9.89744E-30	Pop Spec	3,78E-05
Snon_454_illumina_rep_c24291	gi 357615610 gb EHJ69750.1 putative pol-like protein [Danaus plexippus]	2.53562E-12	Pop Spec	0,00043558
Snon_454_illumina_rep_c18592	gi 357615715 gb EHJ69797.1 hypothetical protein KGM_21765 [Danaus plexippus]	9.25799E-44	Pop Spec	0,00045663
Snon_454_illumina_rep_c50508	gi 357615873 gb EHJ69878.1 hypothetical protein KGM_01538 [Danaus plexippus]	2.4652E-31	Pop Spec	4,10E-06
Snon_454_illumina_rep_c17950	gi 357616487 gb EHJ70218.1 transferrin [Danaus plexippus]	1.49799E-45	Pop Spec	2,97E-10
Snon_454_illumina_rep_c12169	gi 357616676 gb EHJ70332.1 lacunin [Danaus plexippus]	7.63589E-9	Pop Spec	0,00048669
Snon_454_illumina_rep_c12905	gi 357616749 gb EHJ70377.1 hypothetical protein KGM_20861 [Danaus plexippus]	6.06774E-30	Pop Spec	9,03E-12
Snon_454_illumina_rep_c9990	gi 357616762 gb EHJ70390.1 hypothetical protein KGM_20868 [Danaus plexippus]	1.56655E-62	Pop Spec	2,24E-09
Snon_454_illumina_rep_c17957	gi 357617437 gb EHJ70789.1 Hsc70/Hsp90-organizing protein HOP [Danaus plexippus]	6.08777E-30	Pop Spec	1,34E-08
Snon_454_illumina_rep_c13993	gi 357617713 gb EHJ70953.1 hypothetical protein KGM_14785 [Danaus plexippus]	1.45575E-85	Pop Spec	1,45E-10
Snon_454_illumina_rep_c48949	gi 357617844 gb EHJ71027.1 hypothetical protein KGM_09976 [Danaus plexippus]	1.54578E-41	Pop Spec	9,20E-05
Snon_454_illumina_rep_c13846	gi 357618051 gb EHJ71146.1 hypothetical protein KGM_09040 [Danaus plexippus]	5.81491E-30	Pop Spec	8,10E-06
Snon_454_illumina_rep_c6766	gi 357618275 gb EHJ71317.1 hypothetical protein KGM_07282 [Danaus plexippus]	1.37075E-31	Pop Spec	4,19E-11
Snon_454_illumina_rep_c50270	gi 357618545 gb EHJ71490.1 hypothetical protein KGM_16335 [Danaus plexippus]	2.42127E-20	Pop Spec	0,0001256
Snon_454_illumina_rep_c8782	gi 357619317 gb EHJ71941.1 hypothetical protein KGM_01293 [Danaus plexippus]	9.15536E-13	Pop Spec	2,98E-07
Snon_454_illumina_rep_c32661	gi 357619418 gb EHJ72001.1 hypothetical protein KGM_22266 [Danaus plexippus]	4.37942E-14	Pop Spec	0,00127065
Snon_454_illumina_rep_c26832	gi 357619642 gb EHJ72132.1 heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 [Danaus plexippus]	2.84991E-36	Pop Spec	2,53E-05
Snon_454_illumina_rep_c18246	gi 357619769 gb EHJ72213.1 hypothetical protein KGM_02846 [Danaus plexippus]	1.9724E-12	Pop Spec	1,65E-13
Snon_454_illumina_rep_c14991	gi 357620140 gb EHJ72446.1 hypothetical protein KGM_09336 [Danaus plexippus]	6.74776E-43	Pop Spec	1,58E-09
Snon_454_illumina_rep_c11366	gi 357620688 gb EHJ72797.1 putative hemicentin 1 [Danaus plexippus]	7.28734E-15	Pop Spec	0,00094279
Snon_454_illumina_rep_c48793	gi 357620688 gb EHJ72797.1 putative hemicentin 1 [Danaus plexippus]	3.25529E-15	Pop Spec	4,47E-13
Snon_454_illumina_rep_c8456	gi 357621089 gb EHJ73050.1 putative carbonic anhydrase [Danaus plexippus]	1.79427E-78	Pop Spec	2,05E-06
Snon_454_illumina_rep_c25516	gi 357621583 gb EHJ73374.1 hypothetical protein KGM_19050 [Danaus plexippus]	1.66401E-54	Pop Spec	0,00025994
Snon_454_illumina_rep_c49299	gi 357621647 gb EHJ73416.1 putative pol-like protein [Danaus plexippus]	3.32081E-13	Pop Spec	5,96E-05
Snon_454_illumina_rep_c6696	gi 357621972 gb EHJ73609.1 hypothetical protein KGM_20221 [Danaus plexippus]	1.69976E-34	Pop Spec	5,05E-05
Snon_454_illumina_rep_c7369	gi 357622054 gb EHJ73673.1 hypothetical protein KGM_07273 [Danaus plexippus]	1.90843E-15	Pop Spec	4,85E-06
Snon_454_illumina_rep_c14719	gi 357622278 gb EHJ73824.1 hypothetical protein KGM_15998 [Danaus plexippus]	9.40905E-51	Pop Spec	3,94E-05
Snon_454_illumina_rep_c6917	gi 357622777 gb EHJ74172.1 putative Huntingtin interacting protein K [Danaus plexippus]	5.20384E-32	Pop Spec	0,00100881
Snon_454_illumina_rep_c16781	gi 357622927 gb EHJ74276.1 putative xtp3-transactivated protein b [Danaus plexippus]	1.29351E-32	Pop Spec	1,26E-05
Snon_454_illumina_rep_c50566	gi 357623774 gb EHJ74798.1 myosin light polypeptide 9 isoform B [Danaus plexippus]	1.25132E-62	Pop Spec	1,05E-10
Snon_454_illumina_rep_c11502	gi 357624368 gb EHJ75168.1 cytosolic juvenile hormone binding protein 36 kDa subunit [Danaus plexippus]	1.4505E-39	Pop Spec	1,81E-05
Snon_454_illumina_rep_c4877	gi 357624779 gb EHJ75425.1 hypothetical protein KGM_01744 [Danaus plexippus]	1.06614E-45	Pop Spec	0,00108109
Snon_454_illumina_rep_c15012	gi 357624968 gb EHJ75541.1 hypothetical protein KGM_17353 [Danaus plexippus]	1.92716E-12	Pop Spec	0,00026341
Snon_454_illumina_rep_c4841	gi 357625119 gb EHJ75661.1 hypothetical protein KGM_14730 [Danaus plexippus]	5.99822E-49	Pop Spec	4,28E-13
Snon_454_illumina_rep_c4535	gi 357625175 gb EHJ75702.1 hypothetical protein KGM_20797 [Danaus plexippus]	3.41276E-24	Pop Spec	9,54E-10
Snon_454_illumina_rep_c2380	gi 357625324 gb EHJ75804.1 putative selenoprotein M [Danaus plexippus]	3.82192E-30	Pop Spec	6,29E-19
Snon_454_illumina_rep_c10563	gi 357625425 gb EHJ75880.1 hypothetical protein KGM_06150 [Danaus plexippus]	4.03969E-18	Pop Spec	0,00097662
Snon_454_illumina_rep_c22480	gi 357625693 gb EHJ76055.1 hypothetical protein KGM_19999 [Danaus plexippus]	1.3206E-54	Pop Spec	0,00084095
Snon_454_illumina_rep_c49856	gi 357626121 gb EHJ76324.1 putative Choroideremia [Danaus plexippus]	1.2826E-56	Pop Spec	2,83E-06
Snon_454_illumina_rep_c13843	gi 357626333 gb EHJ76459.1 hypothetical protein KGM_20561 [Danaus plexippus]	9.21678E-15	Pop Spec	1,82E-06
Snon_454_illumina_rep_c18944	gi 357627612 gb EHJ77256.1 hypothetical protein KGM_04388 [Danaus plexippus]	8.43949E-9	Pop Spec	7,69E-05
Snon_454_illumina_rep_c22020	gi 357627682 gb EHJ77298.1 hypothetical protein KGM_10066 [Danaus plexippus]	1.8255E-18	Pop Spec	0,0005203
Snon_454_illumina_rep_c27603	gi 357628229 gb EHJ77619.1 hypothetical protein KGM_04639 [Danaus plexippus]	8.88156E-31	Pop Spec	0,00014924
Snon_454_illumina_rep_c13675	gi 357628257 gb EHJ77647.1 hypothetical protein KGM_04653 [Danaus plexippus]	3.6943E-35	Pop Spec	2,51E-06
Snon_454_illumina_rep_c34811	gi 357628257 gb EHJ77647.1 hypothetical protein KGM_04653 [Danaus plexippus]	7.52291E-41	Pop Spec	3,95E-09
Snon_454_illumina_rep_c5021	gi 357628397 gb EHJ77741.1 hypothetical protein KGM_09131 [Danaus plexippus]	0.0	Pop Spec	1,25E-15
Snon_454_illumina_rep_c528	gi 357628853 gb EHJ78008.1 hypothetical protein KGM_06637 [Danaus plexippus]	4.74111E-12	Pop Spec	1,11E-06
Snon_454_illumina_rep_c49163	gi 357628853 gb EHJ78008.1 hypothetical protein KGM_06637 [Danaus plexippus]	9.87129E-12	Pop Spec	7,76E-14
Snon_454_illumina_rep_c37161	gi 357629106 gb EHJ78085.1 hypothetical protein KGM_17643 [Danaus plexippus]	7.18614E-7	Pop Spec	1,95E-06
Snon_454_illumina_rep_c49274	gi 357629249 gb EHJ78143.1 hypothetical protein KGM_01440 [Danaus plexippus]	1.52416E-57	Pop Spec	1,40E-06
Snon_454_illumina_rep_c16700	gi 357630058 gb EHJ78449.1 putative signal recognition particle 54 kDa protein [Danaus plexippus]	2.30413E-13	Pop Spec	1,16E-08
Snon_454_illumina_rep_c3806	gi 357630902 gb EHJ78721.1 electron-transfer-flavoprotein beta polypeptide [Danaus plexippus]	5.95796E-92	Pop Spec	7,64E-06
Snon_454_illumina_rep_c50523	gi 357631100 gb EHJ78794.1 abc transporter [Danaus plexippus]	3.28144E-23	Pop Spec	0,00081401
Snon_454_illumina_rep_c1008	gi 357631134 gb EHJ78805.1 hypothetical protein KGM_13024 [Danaus plexippus]	4.87999E-64	Pop Spec	1,68E-05
Snon_454_illumina_rep_c6134	gi 357631134 gb EHJ78805.1 hypothetical protein KGM_13024 [Danaus plexippus]	1.27614E-18	Pop Spec	1,29E-12
Snon_454_illumina_rep_c21921	gi 357631309 gb EHJ78887.1 hypothetical protein KGM_12125 [Danaus plexippus]	1.26233E-11	Pop Spec	0,00118797
Snon_454_illumina_rep_c14616	gi 357631550 gb EHJ79020.1 hypothetical protein KGM_15698 [Danaus plexippus]	1.60416E-102	Pop Spec	6,26E-08
Snon_454_illumina_rep_c50412	gi 357631587 gb EHJ79056.1 hypothetical protein KGM_15556 [Danaus plexippus]	5.89767E-14	Pop Spec	0,00020303
Snon_454_illumina_rep_c47429	gi 357631596 gb EHJ79065.1 hypothetical protein KGM_15502 [Danaus plexippus]	5.11011E-14	Pop Spec	0,00017066
Snon_454_illumina_rep_c32006	gi 357631662 gb EHJ79131.1 ubiquitin-conjugating enzyme E2L [Danaus plexippus]	2.76007E-22	Pop Spec	1,20E-07
Snon_454_illumina_rep_c9665	gi 357631700 gb EHJ79169.1 putative glucose dehydrogenase [Danaus plexippus]	6.09741E-22	Pop Spec	0,00014427
Snon_454_illumina_rep_c37618	gi 363896064 gb AEW43116.1 UDP-glycosyltransferase UGT33F2 [Helicoverpa armigera]	2.43628E-37	Pop Spec	4,26E-08
Snon_454_illumina_rep_c48903	gi 363896064 gb AEW43116.1 UDP-glycosyltransferase UGT33F2 [Helicoverpa armigera]	2.3235E-37	Pop Spec	2,74E-06
Snon_454_illumina_rep_c50105	gi 363896064 gb AEW43116.1 UDP-glycosyltransferase UGT33F2 [Helicoverpa armigera]	1.40046E-42	Pop Spec	4,76E-05
Snon_454_illumina_rep_c44312	gi 363896068 gb AEW43118.1 UDP-glycosyltransferase UGT33J1 [Helicoverpa armigera]	1.7431E-8	Pop Spec	6,89E-06
Snon_454_illumina_rep_c1001	gi 363896084 gb AEW43126.1 UDP-glycosyltransferase UGT40F2 [Helicoverpa armigera]	7.55106E-17	Pop Spec	9,51E-15
Snon_454_illumina_rep_c49664	gi 363896102 gb AEW43135.1 UDP-glycosyltransferase UGT42B2 [Helicoverpa armigera]	1.28801E-25	Pop Spec	3,49E-09
Snon_454_illumina_rep_c2425	gi 378466310 gb AFC01235.1 DnaJ-21 [Bombyx mori]	3.73454E-83	Pop Spec	0,00030275
Snon_454_illumina_rep_c42172	gi 378725088 gb AFC35297.1 beta-1,3-glucan recognition protein [Antheraea pernyi]	1.94423E-41	Pop Spec	2,53E-15
Snon_454_illumina_rep_c15048	gi 379045803 gb AFC87714.1 Heli-5-tox protein [Helicoverpa armigera]	4.3325E-52	Pop Spec	6,51E-13
Snon_454_illumina_rep_c50575	gi 379698180 dbj BAL70378.1 aldo-keto reductase 2E [Bombyx mori]	6.0985E-43	Pop Spec	7,21E-09
Snon_454_illumina_rep_c15449	gi 380019735 ref XP_003693758.1 PREDICTED: ubiquitin-conjugating enzyme E2 G2-like [Apis florea]	3.18681E-34	Pop Spec	1,15E-07
Snon_454_illumina_rep_c18377	gi 380293935 gb AFD50557.1 Arp2/3-P40 [Spodoptera frugiperda]	6.53409E-55	Pop Spec	8,43E-08
Snon_454_illumina_rep_c3349	gi 383931971 gb AFH57147.1 REPAT27 [Spodoptera exigua]	5.73226E-36	Pop Spec	0,0005286
Snon_454_illumina_rep_c16247	gi 385202647 gb AFI47449.1 C-type lectin 4, partial [Helicoverpa armigera]	5.57949E-81	Pop Spec	7,32E-13
Snon_454_illumina_rep_c3608	gi 385202651 gb AFI47451.1 C-type lectin 6 [Helicoverpa armigera]	5.60625E-89	Pop Spec	3,56E-14
Snon_454_illumina_rep_c14098	gi 386283203 gb AFJ04535.1 caspase 5 [Spodoptera litura]	4.32852E-20	Pop Spec	3,47E-08
Snon_454_illumina_rep_c2211	gi 387591362 gb EIJ83679.1 hypothetical protein MGA3_00205 [Bacillus methanolicus MGA3]	1.16019E-97	Pop Spec	0,00118784
Snon_454_illumina_rep_c4470	gi 387966745 gb AFK14100.1 small heat shock protein 22.0 [Spodoptera litura]	6.77792E-75	Pop Spec	0,00027004
Snon_454_illumina_rep_c1393	gi 389608335 dbj BAM17779.1 similar to CG14207 [Papilio xuthus]	2.76792E-48	Pop Spec	8,51E-22
Snon_454_illumina_rep_c8823	gi 389608621 dbj BAM17920.1 cryptocephal [Papilio xuthus]	1.28135E-11	Pop Spec	0,0008407
Snon_454_illumina_rep_c45317	gi 389608821 dbj BAM18022.1 eclair [Papilio xuthus]	9.63421E-44	Pop Spec	0,00025528
Snon_454_illumina_rep_c28729	gi 389609279 dbj BAM18251.1 similar to CG7830 [Papilio xuthus]	1.42117E-24	Pop Spec	0,00020559
Snon_454_illumina_rep_c13224	gi 389609297 dbj BAM18260.1 proteasome 29kD subunit [Papilio xuthus]	1.77803E-80	Pop Spec	1,63E-08
Snon_454_illumina_rep_c13801	gi 389609311 dbj BAM18267.1 mitochondrial processing peptidase beta subunit [Papilio xuthus]	6.39316E-75	Pop Spec	3,99E-10
Snon_454_illumina_rep_c7069	gi 389609347 dbj BAM18285.1 NADH dehydrogenase [Papilio xuthus]	4.71778E-50	Pop Spec	5,75E-11
Snon_454_illumina_rep_c19622	gi 389609693 dbj BAM18458.1 mitochondrial ribosomal protein L35 [Papilio xuthus]	1.45597E-15	Pop Spec	2,45E-06
Snon_454_illumina_rep_c11336	gi 389609753 dbj BAM18488.1 centrin [Papilio xuthus]	2.14196E-69	Pop Spec	0,00046164
Snon_454_illumina_rep_c11833	gi 389609783 dbj BAM18503.1 gelsolin precursor [Papilio xuthus]	4.14082E-124	Pop Spec	3,14E-10

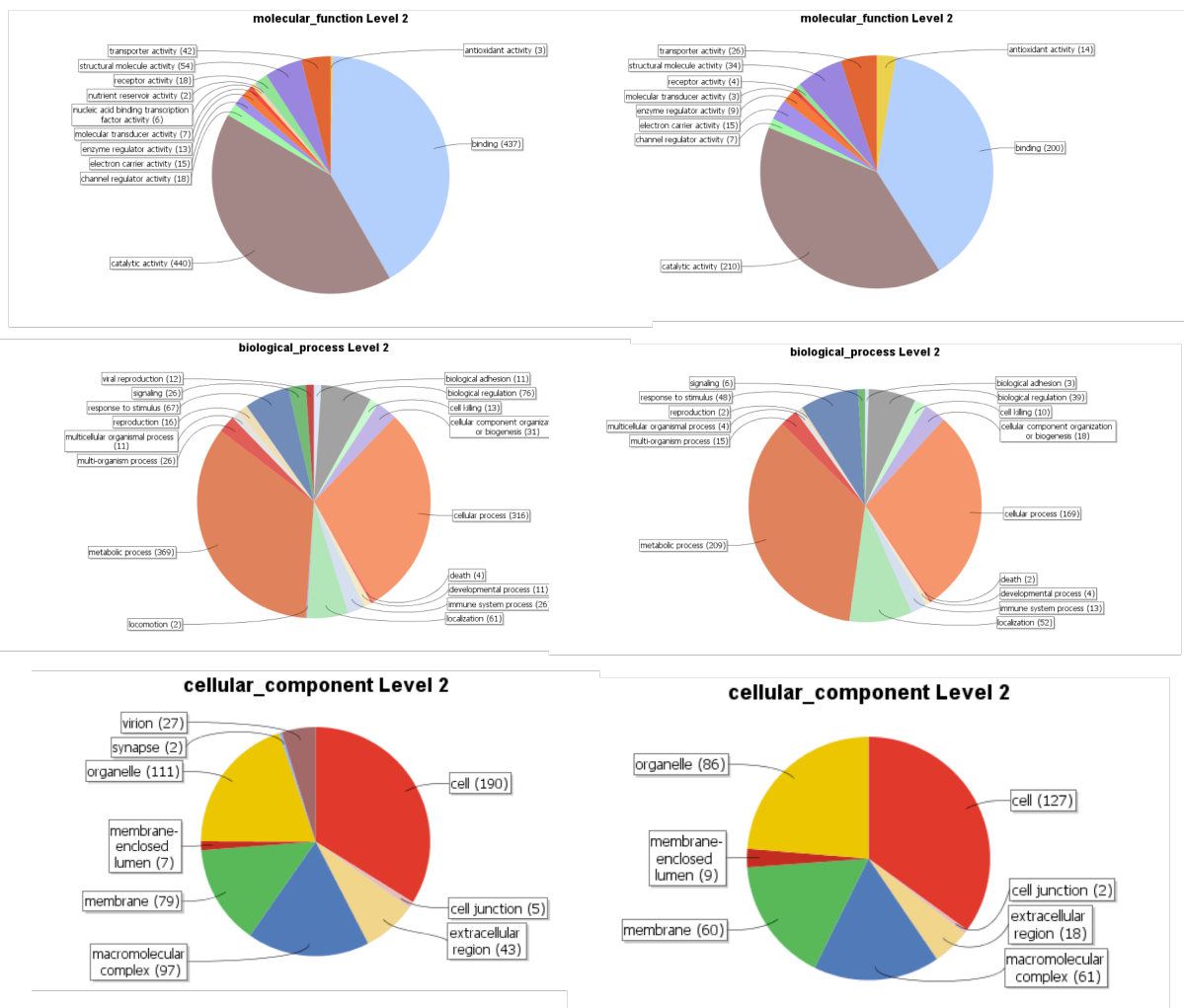
Snon_454_Illumina_rep_c32395	gi 389609783 dbj BAM18503.1 gelsolin precursor [Papilio xuthus]	1.26016E-63	Pop Spec	1,93E-05
Snon_454_Illumina_rep_c1437	gi 389610257 dbj BAM18740.1 similar to CG14688 [Papilio xuthus]	1.23667E-120	Pop Spec	1,92E-07
Snon_454_Illumina_rep_c13402	gi 389610961 dbj BAM19091.1 thioredoxin-2 [Papilio polytes]	2.70876E-46	Pop Spec	4,33E-06
Snon_454_Illumina_rep_c4983	gi 389611011 dbj BAM19116.1 calreticulin [Papilio polytes]	2.35309E-74	Pop Spec	1,48E-10
Snon_454_Illumina_rep_c8381	gi 389611387 dbj BAM19305.1 nitrogen fixation protein nifu [Papilio polytes]	3.85661E-16	Pop Spec	1,08E-14
Snon_454_Illumina_rep_c12173	gi 389611563 dbj BAM19383.1 CRAL/TRIO domain-containing protein [Papilio xuthus]	3.85541E-35	Pop Spec	6,17E-05
Snon_454_Illumina_rep_c12738	gi 389611892 dbj BAM19502.1 vacuolar H[+] ATPase G-subunit [Papilio xuthus]	5.47935E-29	Pop Spec	3,77E-06
Snon_454_Illumina_rep_c45399	gi 389612033 dbj BAM19547.1 unknown unsecreted protein [Papilio xuthus]	4.69463E-14	Pop Spec	9,55E-05
Snon_454_Illumina_rep_c6595	gi 389612096 dbj BAM19573.1 hemosuccin, partial [Papilio xuthus]	7.07614E-41	Pop Spec	1,49E-09
Snon_454_Illumina_rep_c10999	gi 389612967 dbj BAM19875.1 unknown secreted protein [Papilio xuthus]	2.32086E-13	Pop Spec	1,17E-06
Snon_454_Illumina_rep_c36265	gi 389613188 dbj BAM19964.1 swiprosin [Papilio xuthus]	6.63633E-49	Pop Spec	0,00042109
Snon_454_Illumina_rep_c49670	gi 389613541 dbj BAM20109.1 transmembrane emp24 domain-containing protein [Papilio xuthus]	1.01071E-39	Pop Spec	0,00022346
Snon_454_Illumina_rep_c19993	gi 389614972 dbj BAM20487.1 GTP-binding protein sar1 [Papilio polytes]	2.79566E-27	Pop Spec	2,58E-05
Snon_454_Illumina_rep_c13815	gi 390196748 gb AFL70469.1 cytochrome b, partial (mitochondrion) [Sesamia nonagrioides]	8.31926E-27	Pop Spec	0,00011436
Snon_454_Illumina_rep_c48991	gi 41016818 sp P83652.1 ALO2_ACRLORecName: Full=Antimicrobial peptide Alo-2	1.20907E-14	Pop Spec	4,60E-07
Snon_454_Illumina_rep_c50063	gi 4115420 dbj BAA36351.1 24 kDa female-specific fat body protein [Antheraea yamamai]	2.93376E-38	Pop Spec	2,64E-05
Snon_454_Illumina_rep_c50530	gi 56418417 gb AAV91016.1 hemoymph proteinase 18 [Manduca sexta]	9.667E-9	Pop Spec	0,00027414
Snon_454_Illumina_rep_c12269	gi 56462256 gb AAV91411.1 myosin 1 light chain [Lonomia obliqua]	2.2809E-13	Pop Spec	1,54E-06
Snon_454_Illumina_rep_c489	gi 56462282 gb AAV91424.1 protease inhibitor 1 [Lonomia obliqua]	8.34946E-17	Pop Spec	1,50E-09
Snon_454_Illumina_rep_c42730	gi 58801177 dbj BAD89509.1 farnesyltransferase/geranylgeranyltransferase type I alpha subunit [Bombyx mori]	1.24517E-27	Pop Spec	3,11E-10
Snon_454_Illumina_rep_c10111	gi 6273851 gb AAF06364.1 polyprotein [Drosophila willistoni]	2.3679E-26	Pop Spec	2,02E-15
Snon_454_Illumina_rep_c7933	gi 6560653 gb AAF16704.1 AF117582_1calcyphosine-like protein [Manduca sexta]	2.6485E-101	Pop Spec	9,09E-07
Snon_454_Illumina_rep_c49621	gi 6580809 gb AAF18301.1 Hitcher protein [Manduca sexta]	2.48808E-23	Pop Spec	0,00011606
Snon_454_Illumina_rep_c5395	gi 66358028 ref XP_626192.1 polyubiquitin with 3 Ub domains [Cryptosporidium parvum Iowa II]	7.53678E-49	Pop Spec	1,52E-18
Snon_454_Illumina_rep_c23841	gi 6671050 gb AAF23078.1 AF128867_1glutathione S-transferase [Choristoneura fumiferana]	2.84029E-35	Pop Spec	3,99E-12
Snon_454_Illumina_rep_c51454	gi 82623100 gb ABB86978.1 cytochrome b [Busseola fusca]	2.05274E-17	Pop Spec	1,34E-17
Snon_454_Illumina_rep_c16139	gi 91076588 ref XP_968186.1 PREDICTED: similar to CG9723 CG9723-PA [Tribolium castaneum]	1.24465E-31	Pop Spec	7,21E-06
Snon_454_Illumina_rep_c2541	gi 9624379 gb AAF90147.1 AF274021_1tetraspanin D107 [Manduca sexta]	1.32098E-89	Pop Spec	2,79E-05
Snon_454_Illumina_rep_c5889	gi 9624379 gb AAF90147.1 AF274021_1tetraspanin D107 [Manduca sexta]	1.04812E-89	Pop Spec	0,00023031
Snon_454_Illumina_rep_c40358	gi 219881450 gb ACL51928.1 lysozyme precursor [Helicoverpa zea]	7.0339E-66	826,87	1,45E-14
Snon_454_Illumina_rep_c49545	gi 254746346 emb CAX16638.1 putative C1A cysteine protease precursor [Spodoptera frugiperda]	1.36787E-37	760,16	1,88E-13
Snon_454_Illumina_rep_c35632	gi 61660433 gb AAX51193.1 HacD [Helicoverpa armigera]	3.09975E-18	726,40	4,55E-21
Snon_454_Illumina_rep_c11643	gi 385202651 gb AF147451.1 C-type lectin 6 [Helicoverpa armigera]	6.85098E-98	724,92	0,00010014
Snon_454_Illumina_rep_c6600	gi 357611707 gb EHJ67619.1 hypothetical protein KGM_13557 [Danaus plexippus]	1.39416E-50	673,35	7,16E-18
Snon_454_Illumina_rep_c18379	gi 41016818 sp P83652.1 ALO2_ACRLORecName: Full=Antimicrobial peptide Alo-2	1.20907E-14	626,91	2,45E-13
Snon_454_Illumina_rep_c15870	gi 339906844 ref YP_004734372.1 NADH dehydrogenase subunit 1 [Sesamia inferens]	3.43416E-27	622,90	2,75E-15
Snon_454_Illumina_rep_c24757	gi 31340318 sp Q962U0.1 RL13A_SPOFRRecName: Full=60S ribosomal protein L13a	6.54403E-99	598,32	2,10E-21
Snon_454_Illumina_rep_c49404	gi 91080607 ref XP_967476.1 PREDICTED: similar to scavenger receptor cysteine-rich protein isoform 1 [Tribolium castaneum]	3.50192E-9	597,76	1,44E-20
Snon_454_Illumina_rep_c8310	gi 3115357 gb AAC24317.1 cellular retinoic acid binding protein [Manduca sexta]	1.66824E-43	566,08	2,00E-16
Snon_454_Illumina_rep_c6237	gi 389609751 dbj BAM18487.1 muscle LIM protein [Papilio xuthus]	3.17781E-40	565,81	6,89E-20

Supplementary information S2 : Distribution of *Sesamia nonagrioides* contigs annotated at GO level 2 in the larval chemosensory organs of the French (A) and the Kenyan (B) populations.

Larvae chemosensory organs

A. France

B. Kenya



Supplementary information S3: List of contigs differentially expressed in female adult antennae between the French and the Kenyan populations of *Sesamia nonagrioides* (p-value FDR<0.01). Only contigs with a blast hit are presented. Grey lines: contigs enriched in the French population. White lines: contigs enriched in the Kenyan population. (Pop Spec: contigs found to be expressed in only one population).

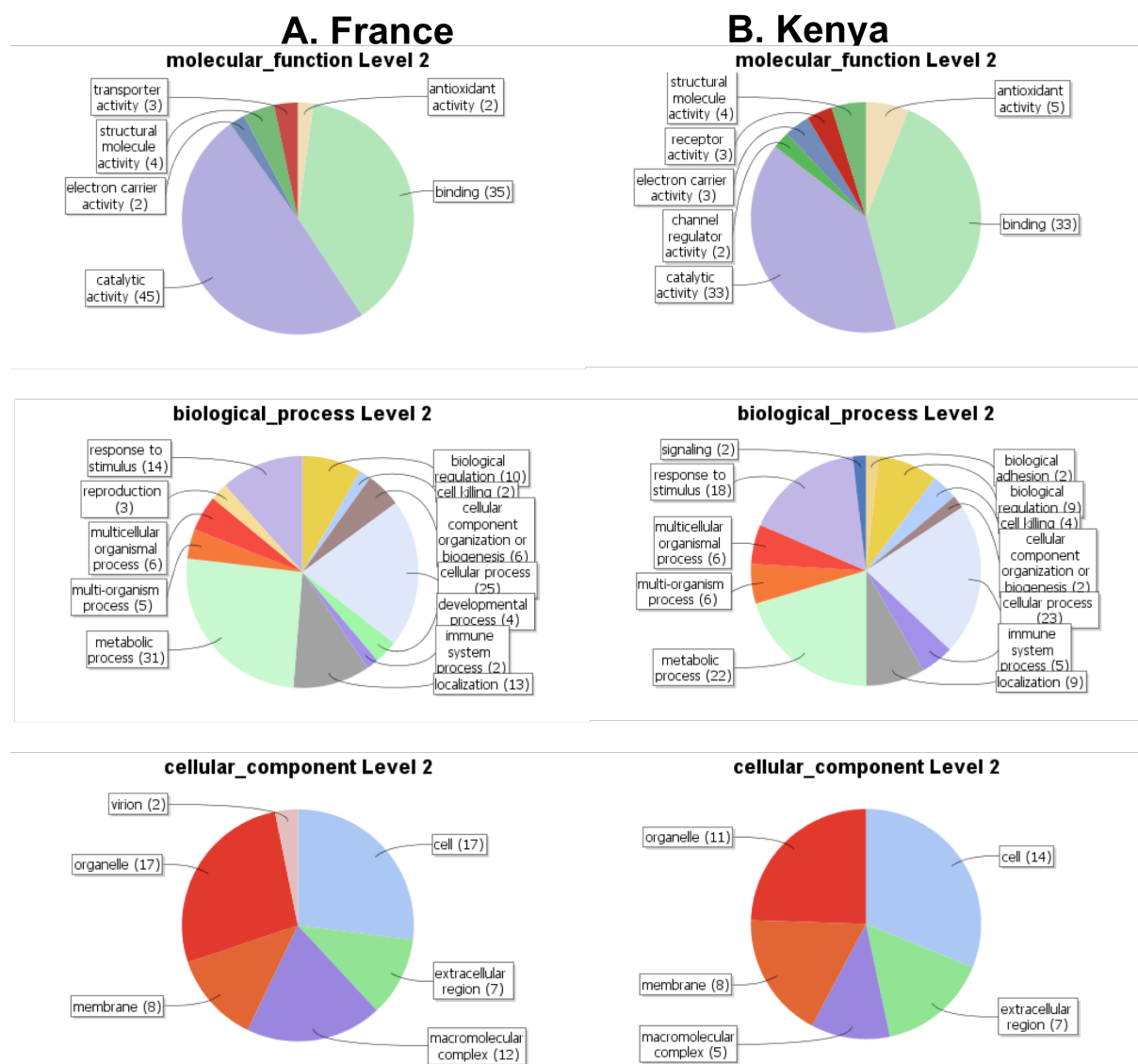
Contig ID (Lepidodb)	Best BLASTX Hit	E-Value	Fold Change (France/Kenya)	p-value
Snon_454_illumina_rep_c9460	gi 28627569 gb AAL83698.1 translation elongation factor 2 [Spodoptera exigua]	6,03E-96	Pop Spec	8,04E-06
Snon_454_illumina_rep_c3684	gi 307167814 gb EFN61253.1 Uncharacterized ATP-dependent helicase YHR031C [Camponotus floridanus]	0,00E+00	Pop Spec	6,23E-09
Snon_454_illumina_rep_c34944	gi 336089093 gb AEH99512.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1,55E-09	Pop Spec	6,18E-05
Snon_454_illumina_rep_c695	gi 357626242 gb EHJ76401.1 chemosensory protein CSP1 [Danaus plexippus]	6,01E-38	Pop Spec	1,22E-12
Snon_454_illumina_rep_c2369	gi 385275513 gb AFI57167.1 odorant-binding protein 18 [Helicoverpa armigera]	5,87E-45	Pop Spec	6,68E-07
Snon_454_illumina_rep_c16644	gi 48557901 gb AAS49923.1 pheromone binding protein 2 precursor [Sesamia nonagrioides]	6,44E-66	Pop Spec	2,40E-11
Snon_454_illumina_c25122	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	3,26E-49	Pop Spec	1,44E-07
Snon_454_illumina_c36155	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	8,70E-35	Pop Spec	9,55E-06
Snon_454_illumina_c42469	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	1,63E-45	Pop Spec	4,55E-05
Snon_454_illumina_rep_c3239	gi 156891151 gb ABU96713.1 diapausin precursor [Spodoptera litura]	2,63E-17	1684,62	2,44E-10
Snon_454_illumina_rep_c5913	gi 389611892 dbj BAM19502.1 vacuolar H(+) ATPase G-subunit [Papilio xuthus]	2,96E-30	1487,38	8,12E-10
Snon_454_illumina_rep_c161	gi 260907994 gb ACX53796.1 DUF233 protein [Heliothis virescens]	2,53E-88	1207,66	1,11E-13
Snon_454_illumina_rep_c30232	gi 365919040 gb AEX07267.1 CSP6 [Helicoverpa armigera]	4,64E-46	1023,86	2,89E-08
Snon_454_illumina_c28553	gi 296005647 ref YP_003622540.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	1,81E-14	1016,69	3,09E-08
Snon_454_illumina_rep_c1335	gi 307197722 gb EFN78871.1 hypothetical protein EAL_02279 [Harpegnathos saltator]	8,65E-35	999,66	3,63E-08
Snon_454_illumina_rep_c1	gi 301070170 gb ADK55526.1 polyprotein [Deformed wing virus]	4,27E-46	951,02	1,56E-15
Snon_454_illumina_c33564	gi 114842189 dbj BAF32579.1 polyprotein [Kakugo virus]	1,38E-16	896,55	1,00E-07
Snon_454_illumina_rep_c3452	gi 114052116 ref NP_001040454.1 ML-domain containing secreted protein precursor [Bombyx mori]	1,67E-37	879,07	5,13E-10
Snon_454_illumina_rep_c13656	gi 48557901 gb AAS49923.1 pheromone binding protein 2 precursor [Sesamia nonagrioides]	8,37E-94	791,66	3,12E-07
Snon_454_illumina_rep_c2	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	0,00E+00	704,56	7,44E-15
Snon_454_illumina_rep_c110	gi 21759389 sp Q962U1.1 RL13_SPOFRRecName: Full=60S ribosomal protein L13	1,67E-80	694,83	2,59E-10
Snon_454_illumina_rep_c49774	gi 114842189 dbj BAF32579.1 polyprotein [Kakugo virus]	2,18E-29	693,93	1,01E-06
Snon_454_illumina_c38497	gi 390190254 gb AFL65634.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1,20E-09	634,76	2,18E-06
Snon_454_illumina_c9469	gi 42600554 dbj BAD11135.1 putative transposase yabusame-1 [Bombyx mori]	9,74E-36	633,19	9,45E-11
Snon_454_illumina_rep_c989	gi 38371702 ref NP_941973.1 RNA polymerase [Uukuniemi virus]	5,10E-58	593,97	2,05E-08
Snon_454_illumina_rep_c3108	gi 166014096 gb ABA54273.2 90 kDa heat shock protein 83 [Sesamia nonagrioides]	0,00E+00	527,17	1,29E-10
Snon_454_illumina_rep_c4079	gi 85726208 gb ABC79625.1 imaginal disc growth factor-like protein [Mamestra brassicae]	5,15E-145	517,76	7,31E-08
Snon_454_illumina_rep_c13237	gi 296005647 ref YP_003622540.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	1,44E-19	485,03	1,97E-05
Snon_454_illumina_rep_c16024	gi 111380719 gb ABH09735.1 heat shock cognate 70 protein [Trichoplusia ni]	5,82E-108	468,90	2,56E-05
Snon_454_illumina_rep_c15670	gi 357631021 gb EHJ8760.1 hypothetical protein KGM_11851 [Danaus plexippus]	4,38E-12	467,10	2,63E-05
Snon_454_illumina_c39929	gi 221090731 ref XP_002170166.1 PREDICTED: similar to transposase-like [Hydra magnipapillata]	2,61E-94	455,67	1,87E-09
Snon_454_illumina_rep_c259	gi 156763634 gb ABU94676.1 alpha-tubulin [Xestia cnigrum]	0,00E+00	455,32	1,38E-12
Snon_454_illumina_rep_c364	gi 389610961 dbj BAM19091.1 thioredoxin-2 [Papilio polytes]	2,86E-48	434,83	4,52E-05
Snon_454_illumina_rep_c49730	gi 357618740 gb EHJ71609.1 hypothetical protein KGM_09380 [Danaus plexippus]	3,58E-06	433,03	2,98E-09
Snon_454_illumina_rep_c6414	gi 94471737 gb ABF21088.1 period [Bombyx mori]	9,19E-39	414,43	8,71E-11
Snon_454_illumina_rep_c25435	gi 112983146 ref NP_001036944.1 juvenile hormone binding protein an-0895 precursor [Bombyx mori]	1,62E-80	401,33	2,00E-11
Snon_454_illumina_rep_c49064	gi 260907988 gb ACX53793.1 DUF233 protein [Heliothis virescens]	1,58E-46	356,83	1,99E-06
Snon_454_illumina_rep_c3150	gi 389611563 dbj BAM19383.1 CRAL/TRIO domain-containing protein [Papilio xuthus]	5,27E-24	355,03	2,08E-06
Snon_454_illumina_rep_c1685	gi 564621583 gb AAV91424.1 protease inhibitor 1 [Lononia obliqua]	5,84E-16	288,99	7,71E-07
Snon_454_illumina_rep_c15673	gi 114051415 ref NP_001040315.1 glutamyl-tRNA amidotransferase subunit B [Bombyx mori]	2,81E-98	258,43	3,11E-07
Snon_454_illumina_rep_c5910	gi 7272336 gb AAF44717.1 L47123_1ferritin [Manduca sexta]	3,10E-97	251,93	3,30E-05
Snon_454_illumina_rep_c5221	gi 371571161 emb CCF23426.1 Protein LEA-1, isoform k [Caenorhabditis elegans]	5,41E-12	248,94	2,75E-06
Snon_454_illumina_rep_c5928	gi 389611353 dbj BAM19288.1 bcr-associated protein, bap [Papilio polytes]	4,49E-21	245,66	4,00E-05
Snon_454_illumina_rep_c6633	gi 44976947 gb AAS49922.1 pheromone binding protein 1 precursor [Sesamia nonagrioides]	4,55E-91	236,93	3,56E-11
Snon_454_illumina_rep_c7603	gi 114051415 ref NP_001040315.1 glutamyl-tRNA amidotransferase subunit B [Bombyx mori]	7,40E-112	219,14	1,47E-09
Snon_454_illumina_rep_c853	gi 41016817 sp P83651.1 ALO1_ACRLORecName: Full=Antimicrobial peptide Alo-1	4,16E-15	216,29	2,38E-08
Snon_454_illumina_rep_c5870	gi 28627569 gb AAL83698.1 translation elongation factor 2 [Spodoptera exigua]	0,00E+00	213,23	1,37E-07
Snon_454_illumina_rep_c3037	gi 357602585 gb EHJ63457.1 putative thioredoxin reductase isoform 2 [Danaus plexippus]	1,28E-69	191,22	1,45E-07
Snon_454_illumina_rep_c4488	gi 56462282 gb AAV91424.1 protease inhibitor 1 [Lononia obliqua]	8,52E-17	189,30	1,58E-07
Snon_454_illumina_rep_c5505	gi 164448660 ref NP_001106742.1 cytochrome c oxidase polypeptide Vb [Bombyx mori]	3,34E-61	187,60	4,70E-06
Snon_454_illumina_rep_c5214	gi 114052462 ref NP_001040245.1 glutamate dehydrogenase [Bombyx mori]	4,61E-125	176,92	4,14E-05
Snon_454_illumina_rep_c1789	gi 357621583 gb EHJ73374.1 hypothetical protein KGM_19050 [Danaus plexippus]	4,78E-53	176,40	2,14E-09
Snon_454_illumina_rep_c10645	gi 357607973 gb EHJ65767.1 hypothetical protein KGM_22301 [Danaus plexippus]	6,14E-72	167,66	6,16E-05
Snon_454_illumina_rep_c7086	gi 328670877 gb AEB26315.1 heat shock protein [Helicoverpa armigera]	5,77E-119	157,08	5,29E-06
Snon_454_illumina_rep_c639	gi 48557901 gb AAS49923.1 pheromone binding protein 2 precursor [Sesamia nonagrioides]	2,89E-93	156,00	4,89E-08
Snon_454_illumina_rep_c1094	gi 28627569 gb AAL83698.1 translation elongation factor 2 [Spodoptera exigua]	0,00E+00	150,80	7,34E-06
Snon_454_illumina_rep_c45837	gi 357609925 gb EHJ66747.1 ecdysteroid 22-kinase [Danaus plexippus]	5,66E-19	144,94	3,57E-06
Snon_454_illumina_rep_c1912	gi 357630482 gb EHJ78566.1 hypothetical protein KGM_11365 [Danaus plexippus]	1,01E-24	132,06	4,83E-07
Snon_454_illumina_rep_c24819	gi 357621566 gb EHJ73358.1 hypothetical protein KGM_15941 [Danaus plexippus]	6,65E-170	129,09	1,29E-09
Snon_454_illumina_rep_c931	gi 260657054 gb ACX47897.1 glutathione S-transferase [Amyelois transitella]	2,92E-96	123,51	9,94E-09
Snon_454_illumina_rep_c5763	gi 260657054 gb ACX47897.1 glutathione S-transferase [Amyelois transitella]	1,56E-64	117,58	8,14E-06
Snon_454_illumina_rep_c24199	gi 21898574 gb AAM77040.1 chemosensory protein 2 [Heliothis virescens]	2,27E-54	110,81	6,07E-09
Snon_454_illumina_rep_c32726	gi 301070168 gb ADK55525.1 polyprotein [Deformed wing virus]	1,01E-46	107,61	1,00E-09
Snon_454_illumina_rep_c278	gi 219881450 gb ACL51928.1 lysozyme precursor [Helicoverpa zea]	6,30E-71	107,59	8,06E-06

Snon_454_illumina_rep_c514	gi 389610655 dbj BAM18939.1 polyA-binding protein [Papilio polytes]	3,09E-132	103,53	1,81E-07
Snon_454_illumina_rep_c14434	gi 389609129 dbj BAM18176.1 yellow-x [Papilio xuthus]	8,07E-49	102,95	5,04E-05
Snon_454_illumina_rep_c17542	gi 299481057 gb ACM78602.2 juvenile hormone epoxide hydrolase [Helicoverpa armigera]	1,73E-20	93,28	2,30E-07
Snon_454_illumina_rep_c11351	gi 357631822 gb EHJ79289.1 putative CRAL/TRIO domain-containing protein [Danaus plexippus]	1,54E-52	88,84	7,22E-06
Snon_454_illumina_rep_c31693	gi 193634257 ref XP_001947432.1 PREDICTED: hypothetical protein LOC100166020 [Acyrtosiphon pisum]	1,75E-20	88,42	3,58E-05
Snon_454_illumina_rep_c12817	gi 5852166 emb CAB55500.1 vacuolar ATPase subunit a [Manduca sexta]	4,57E-136	87,30	3,93E-05
Snon_454_illumina_rep_c1735	gi 73671225 gb AAZ80044.1 diapause bioclock protein [Bombyx mandarina]	9,06E-53	80,69	1,29E-06
Snon_454_illumina_c16921	gi 291221331 ref XP_002730675.1 PREDICTED: RETrotransposon-like family member (retr-1)-like, partial [Saccoglossus kowalevskii]	0,00E+00	79,43	2,67E-05
Snon_454_illumina_rep_c4896	gi 189238674 ref XP_001807351.1 PREDICTED: similar to pol polyprotein [Tribolium castaneum]	0,00E+00	77,48	6,94E-07
Snon_454_illumina_rep_c5883	gi 124246513 gb ABM92663.1 chemosensory protein CSP3 [Plutella xylostella]	2,51E-36	77,43	2,05E-05
Snon_454_illumina_rep_c17243	gi 357611376 gb EHJ67446.1 ecdysteroid 22-kinase [Danaus plexippus]	2,97E-41	70,66	2,37E-06
Snon_454_illumina_rep_c338	gi 114051243 ref NP_001040382.1 FK506-binding protein [Bombyx mori]	1,05E-54	56,80	2,87E-05
Snon_454_illumina_rep_c5345	gi 112984484 ref NP_001037183.1 glutathione S-transferase delta 1 [Bombyx mori]	6,75E-90	50,73	2,09E-07
Snon_454_illumina_rep_c9678	gi 315306480 gb ADU03994.1 saposin-like protein [Bombyx mori]	1,85E-33	47,56	5,21E-05
Snon_454_illumina_rep_c50390	gi 260657054 gb ACX47897.1 glutathione S-transferase [Amyelois transitella]	2,66E-15	39,51	6,06E-05
Snon_454_illumina_c22087	gi 21450885 ref NP_659020.2 replicase [Sorghum chlorotic spot virus]	1,31E-22	36,73	4,97E-05
Snon_454_illumina_rep_c88	gi 389610533 dbj BAM18878.1 elongation factor 1 alpha [Papilio polytes]	0,00E+00	36,44	5,98E-06
Snon_454_illumina_rep_c754	gi 40022264 gb AAR37334.1 diazepam-binding inhibitor [Helicoverpa armigera]	1,82E-38	35,70	5,45E-05
Snon_454_illumina_rep_c20850	gi 358336555 dbj GAA55031.1 ubiquitin C [Clonorchis sinensis]	3,75E-72	34,65	2,59E-05
Snon_454_illumina_c17815	gi 357624391 gb EHJ75178.1 reverse transcriptase [Danaus plexippus]	8,66E-13	34,12	1,91E-05
Snon_454_illumina_rep_c3310	gi 357616374 gb EHJ70158.1 hypothetical protein KGM_07404 [Danaus plexippus]	1,39E-57	32,86	4,52E-05
Snon_454_illumina_rep_c14552	gi 6560653 gb AAF16704.1 AF117582_1calcyphosine-like protein [Manduca sexta]	2,86E-101	32,46	4,90E-05
Snon_454_illumina_c15983	gi 290563297 ref NP_001166774.1 cuticular protein hypothetical 3 precursor [Bombyx mori]	1,35E-10	31,15	2,62E-05
Snon_454_illumina_rep_c426	gi 62913889 gb AAY21920.1 cytochrome P450 [Helicoverpa armigera]	0,00E+00	29,83	1,20E-06
Snon_454_illumina_rep_c7846	gi 350577946 gb AEQ30020.1 pheromone binding protein 3 [Sesamia inferens]	7,09E-79	25,54	4,97E-06
Snon_454_illumina_rep_c6545	gi 13236827 gb AAK14793.1 sensory appendage protein-like protein [Mamestra brassicae]	3,89E-30	23,77	1,43E-05
Snon_454_illumina_rep_c1503	gi 18254383 gb AL66739.1 AF461143_1pheromone binding protein 4 [Mamestra brassicae]	1,05E-57	22,33	8,42E-06
Snon_454_illumina_rep_c3	gi 389610655 dbj BAM18939.1 polyA-binding protein [Papilio polytes]	0,00E+00	20,12	8,85E-06
Snon_454_illumina_rep_c4566	gi 189239728 ref XP_001807662.1 PREDICTED: similar to putative gag-pol protein [Tribolium castaneum]	0,00E+00	18,15	4,57E-05
Snon_454_illumina_rep_c335	gi 390988237 gb AFM36760.1 general odorant-binding protein 2 [Agrotis ipsilon]	1,18E-81	15,23	4,21E-05
Snon_454_illumina_rep_c4141	gi 357630609 gb EHJ78611.1 putative gamma glutamyl transpeptidase [Danaus plexippus]	0,00E+00	14,94	5,16E-05
Snon_454_illumina_rep_c10788	gi 114052088 ref NP_001040451.1 vacuolar ATP synthase subunit E [Bombyx mori]	8,32E-64	Pop Spec	4,72E-05
Snon_454_illumina_rep_c5568	gi 167013174 pdb 2E46 AChain A, Crystal Structure Analysis Of The Clock Protein Ea4	8,62E-20	Pop Spec	5,16E-05
Snon_454_illumina_rep_c51989	gi 260663840 ref ZP_05864724.1 conserved hypothetical protein [Lactobacillus fermentum 28-3-CHN]	2,54E-20	Pop Spec	5,01E-05
Snon_454_illumina_rep_c50579	gi 260907994 gb ACX53796.1 DUF233 protein [Heliothis virescens]	1,41E-10	Pop Spec	5,65E-05
Snon_454_illumina_rep_c10930	gi 290559935 ref NP_001166792.1 cuticular protein glycine-rich 10 precursor [Bombyx mori]	5,76E-20	Pop Spec	5,86E-05
Snon_454_illumina_rep_c10495	gi 290560653 ref NP_001166835.1 aldehyde dehydrogenase isoform 1 [Bombyx mori]	1,47E-30	Pop Spec	9,65E-06
Snon_454_illumina_c19060	gi 290972389 ref XP_002669158.1 predicted protein [Naegleria gruberi]	3,32E-12	Pop Spec	4,50E-05
Snon_454_illumina_rep_c24757	gi 31340318 sp Q962U0.1 RL13A_SPOFRRcName: Full=60S ribosomal protein L13a	6,54E-99	Pop Spec	3,80E-05
Snon_454_illumina_rep_c6343	gi 357605265 gb EHJ64534.1 proline-rich protein [Danaus plexippus]	1,10E-21	Pop Spec	2,75E-05
Snon_454_illumina_rep_c49178	gi 357606807 gb EHJ65227.1 putative NADH:ubiquinone dehydrogenase [Danaus plexippus]	5,73E-36	Pop Spec	3,46E-06
Snon_454_illumina_rep_c11702	gi 357607973 gb EHJ65767.1 hypothetical protein KGM_22301 [Danaus plexippus]	6,18E-57	Pop Spec	2,66E-06
Snon_454_illumina_c29608	gi 357620429 gb EHJ72624.1 ribosomal protein S17 [Danaus plexippus]	3,51E-14	Pop Spec	6,05E-05
Snon_454_illumina_rep_c25516	gi 357621583 gb EHJ73374.1 hypothetical protein KGM_19050 [Danaus plexippus]	1,66E-53	Pop Spec	1,01E-05
Snon_454_illumina_rep_c14616	gi 357631550 gb EHJ79020.1 hypothetical protein KGM_15698 [Danaus plexippus]	1,60E-102	Pop Spec	2,69E-05
Snon_454_illumina_rep_c1001	gi 363896084 gb AEW43126.1 UDP-glycosyltransferase UGT40F2 [Helicoverpa armigera]	7,55E-17	Pop Spec	2,85E-06
Snon_454_illumina_rep_c11547	gi 389608269 dbj BAM17746.1 14-3-3 protein zeta [Papilio xuthus]	7,77E-36	Pop Spec	1,68E-06
Snon_454_illumina_rep_c8381	gi 389611387 dbj BAM19305.1 nitrogen fixation protein nifu [Papilio polytes]	3,86E-16	Pop Spec	4,82E-05
Snon_454_illumina_rep_c9068	gi 40022264 gb AAR37334.1 diazepam-binding inhibitor [Helicoverpa armigera]	1,81E-38	Pop Spec	2,76E-05
Snon_454_illumina_rep_c48839	gi 41016817 sp P83651.1 ALO1_ACRLORecName: Full=Antimicrobial peptide Alo-1	4,17E-15	Pop Spec	4,68E-05
Snon_454_illumina_rep_c35632	gi 61660433 gb AAX51193.1 HacD [Helicoverpa armigera]	3,10E-18	Pop Spec	3,62E-05
Snon_454_illumina_rep_c7933	gi 6560653 gb AAF16704.1 AF117582_1calcyphosine-like protein [Manduca sexta]	2,65E-101	Pop Spec	4,12E-05
Snon_454_illumina_rep_c10684	gi 282931691 ref ZP_06337182.1 conserved hypothetical protein [Lactobacillus jensenii 208-1]	1,29E-37	7176,38	3,97E-06
Snon_454_illumina_rep_c131	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	0,00E+00	4228,20	9,45E-06
Snon_454_illumina_rep_c621	gi 122894080 gb ABM67686.1 chemosensory protein CSP1 [Plutella xylostella]	1,63E-42	3474,42	1,77E-06
Snon_454_illumina_rep_c301	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	1,93E-68	3167,13	5,87E-07
Snon_454_illumina_rep_c444	gi 48557901 gb AAS49923.1 pheromone binding protein 2 precursor [Sesamia nonagrioides]	3,04E-90	2097,29	8,24E-08
Snon_454_illumina_rep_c12695	gi 15741226 ref NP_277061.1 polyprotein [Perina nuda virus]	1,96E-135	1905,08	4,98E-05
Snon_454_illumina_rep_c2852	gi 115515395 gb ABJ03470.1 conserved hypothetical protein [Escherichia coli APEC O1]	1,92E-93	1375,44	3,57E-07
Snon_454_illumina_rep_c22704	gi 300973359 ref ZP_07172160.1 hypothetical protein HMPREF9553_00243 [Escherichia coli MS 200-1]	3,93E-66	1191,60	1,43E-07
Snon_454_illumina_rep_c14634	gi 237702455 ref ZP_04532936.1 LOW QUALITY PROTEIN: cell wall-associated hydrolase [Escherichia sp. 3_2_53FAA]	1,51E-52	1162,51	1,68E-05
Snon_454_illumina_rep_c582	gi 78033430 emb CAJ30045.1 conserved hypothetical protein [Magnetospirillum gryphiswaldense MSR-1]	1,04E-41	1122,57	3,37E-07
Snon_454_illumina_rep_c19892	gi 112820887 gb ABI24159.1 general odorant binding protein 1, partial [Agrotis segetum]	5,06E-12	1122,38	1,41E-06
Snon_454_illumina_rep_c6797	gi 153217685 ref ZP_01951366.1 conserved hypothetical protein [Vibrio cholerae 1587]	1,18E-38	953,10	4,68E-08
Snon_454_illumina_rep_c19040	gi 6560653 gb AAF16704.1 AF117582_1calcyphosine-like protein [Manduca sexta]	2,46E-101	829,29	1,51E-07
Snon_454_illumina_rep_c5188	gi 389608961 dbj BAM18092.1 similar to CG7781 [Papilio xuthus]	7,88E-61	816,46	4,73E-06
Snon_454_illumina_rep_c35239	gi 301015887 pdb 3M95 AChain A, Crystal Structure Of Autophagy-Related Protein Atg8 From The Silkworm Bombyx Mori			
Snon_454_illumina_rep_c6507	gi 114051243 ref NP_001040382.1 FK506-binding protein [Bombyx mori]	9,06E-58	698,23	6,02E-07
Snon_454_illumina_rep_c11738	gi 73671225 gb AAZ80044.1 diapause bioclock protein [Bombyx mandarina]	6,53E-55	677,04	1,18E-05
Snon_454_illumina_rep_c694	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	5,12E-53	662,54	1,68E-06
Snon_454_illumina_rep_c32271	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	8,47E-88	659,27	2,28E-05
Snon_454_illumina_rep_c4024	gi 78033430 emb CAJ30045.1 conserved hypothetical protein [Magnetospirillum gryphiswaldense MSR-1]	1,37E-13	600,08	2,48E-09
Snon_454_illumina_rep_c4929	gi 112982938 ref NP_001037099.1 chorion b-ZIP transcription factor [Bombyx mori]	1,37E-13	597,85	4,68E-07
Snon_454_illumina_rep_c9362	gi 389608367 dbj BAM17793.1 protein disulfide isomerase [Papilio xuthus]	1,50E-36	553,23	6,91E-08
Snon_454_illumina_rep_c3434	gi 389608625 dbj BAM17922.1 glutamine synthetase 2 [Papilio xuthus]	7,45E-133	536,50	1,25E-06
Snon_454_illumina_rep_c3434	gi 186703383 gb ACC91898.1 hemolin [Helicoverpa zea]	6,01E-107	533,15	1,08E-05
Snon_454_illumina_rep_c49036	gi 25090166 sp Q8TOW8.1 DIAP_GASATRecName: Full=Diapause-specific peptide; Short=DSP; AltName: Full=Diapausin; Flags: Precursor	5,94E-110		
Snon_454_illumina_c15988	gi 168823415 ref NP_001108341.1 cytochrome P450 CYP366A1 precursor [Bombyx mori]	1,80E-13	515,68	3,65E-09
Snon_454_illumina_rep_c4601	gi 122894080 gb ABM67686.1 chemosensory protein CSP1 [Plutella xylostella]	4,33E-141	513,73	1,00E-08
Snon_454_illumina_rep_c1351	gi 390988235 gb AFM36759.1 general odorant-binding protein 1 [Agrotis ipsilon]	2,73E-42	512,80	1,75E-05
Snon_454_illumina_rep_c15290	gi 357606417 gb EHJ64258.1 hypothetical protein KGM_21659 [Danaus plexippus]	1,77E-73	509,03	9,81E-08
Snon_454_illumina_rep_c12979	gi 357606417 gb EHJ64258.1 hypothetical protein KGM_21659 [Danaus plexippus]	1,96E-103	476,27	1,43E-05
Snon_454_illumina_rep_c49278	gi 357606417 gb EHJ64258.1 hypothetical protein KGM_21659 [Danaus plexippus]	3,72E-10	471,25	8,88E-07
Snon_454_illumina_rep_c2988	gi 350577946 gb AEQ30020.1 pheromone binding protein 3 [Sesamia inferens]	3,72E-74	444,29	1,50E-07
Snon_454_illumina_rep_c3691	gi 357479883 ref XP_003610227.1 Ycf68 [Medicago truncatula]	2,45E-49	393,35	3,92E-07
Snon_454_illumina_rep_c48802	gi 389568612 gb AFK85030.1 aminopeptidase N-14 [Bombyx mori]	0,00E+00	337,22	1,04E-09
Snon_454_illumina_rep_c1393	gi 156891151 gb ABU96713.1 diapausin precursor [Spodoptera litura]	2,56E-20	337,11	1,40E-07
Snon_454_illumina_rep_c3045	gi 389608335 dbj BAM17779.1 similar to CG14207 [Papilio xuthus]	2,77E-48	331,27	2,40E-05
Snon_454_illumina_rep_c4	gi 157064217 gb AAY26452.2 heat shock cognate 70 protein [Sesamia nonagrioides]	0,00E+00	312,31	9,06E-07
Snon_454_illumina_rep_c4	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	0,00E+00	310,31	8,00E-09

Snon_454_illumina_rep_c48886	gi 26007526 gb AAF71290.2 AF255919_1chemosensory protein [Mamestra brassicae]	1,93E-52	298,04	1,88E-06
Snon_454_illumina_rep_c48887	gi 47457941 dbj BAD18973.2 60S ribosomal protein L13 [Antheraea yamamai]	1,20E-69	278,10	7,04E-07
Snon_454_illumina_rep_c4227	gi 357610409 gb EHJ66967.1 endonuclease-reverse transcriptase HmRTE-e01 [Danaus plexippus]	3,35E-13	271,60	4,35E-06
Snon_454_illumina_rep_c3794	gi 357603261 gb EHJ63682.1 putative sulfide quinone reductase [Danaus plexippus]	4,96E-134	270,08	5,87E-07
Snon_454_illumina_rep_c2914	gi 160333247 ref NP_001103811.1 aldehyde oxidase 2 [Bombyx mori]	1,37E-120	269,09	1,19E-05
Snon_454_illumina_rep_c5722	gi 73671225 gb AAZ80044.1 diapause bioclock protein [Bombyx mandarina]	9,92E-53	262,78	2,61E-08
Snon_454_illumina_rep_c19101	gi 112982792 ref NP_001036897.1 Y-box protein [Bombyx mori]	2,46E-08	243,90	4,01E-08
Snon_454_illumina_rep_c21542	gi 24181418 gb AAL48300.1 cytochrome P450 CYP4L4 [Mamestra brassicae]	1,02E-109	235,35	3,51E-06
Snon_454_illumina_rep_c2408	gi 324103925 gb ADY17882.1 odorant binding protein [Spodoptera exigua]	3,63E-43	229,05	7,44E-07
Snon_454_illumina_rep_c16597	gi 114052116 ref NP_001040454.1 ML-domain containing secreted protein precursor [Bombyx mori]	1,75E-35	220,47	1,75E-07
Snon_454_illumina_rep_c48805	gi 21898574 gb AAM77040.1 chemosensory protein 2 [Heliothis virescens]	5,41E-47	212,15	6,70E-10
Snon_454_illumina_rep_c2315	gi 339241765 ref XP_003376808.1 retrovirus-related Pol polyprotein from transposon TNT 1-94 [Trichinella spiralis]	0,00E+00	200,15	1,85E-08
Snon_454_illumina_rep_c49047	gi 112983146 ref NP_001036944.1 juvenile hormone binding protein an-0895 precursor [Bombyx mori]	2,51E-36	186,37	5,80E-06
Snon_454_illumina_c20052	gi 328716663 ref XP_001943426.2 PREDICTED: hypothetical protein LOC100161732 [Acyrtosiphon pisum]	4,76E-66	179,02	4,47E-06
Snon_454_illumina_rep_c49498	gi 121485829 gb ABM54824.1 general odorant-binding protein GOBP2 [Spodoptera litura]	5,04E-45	167,12	5,25E-05
Snon_454_illumina_rep_c10983	gi 357619111 gb EHJ71816.1 hypothetical protein KGM_00584 [Danaus plexippus]	2,28E-07	163,96	3,22E-06
	gi 189234033 ref XP_001807972.1 PREDICTED: similar to protease, reverse transcriptase, ribonuclease H, integrase [Tribolium castaneum]	0,00E+00	154,70	1,14E-07
Snon_454_illumina_rep_c3670	gi 339247223 ref XP_003375245.1 putative integrase core domain protein [Trichinella spiralis]	0,00E+00	153,43	3,81E-05
Snon_454_illumina_rep_c3128	gi 56462326 gb AAV91446.1 hypothetical protein 33 [Lonomia obliqua]	3,35E-28	144,57	3,86E-07
Snon_454_illumina_rep_c3252	gi 357617779 gb EHJ70988.1 hypothetical protein KGM_02800 [Danaus plexippus]	2,19E-74	131,79	9,48E-12
Snon_454_illumina_rep_c3961	gi 122894080 gb ABM67686.1 chemosensory protein CSP1 [Plutella xylostella]	2,17E-42	121,10	1,65E-09
Snon_454_illumina_rep_c7299	gi 353678113 sp B2RFN2.1 SNMP2_HELVIRecName: Full-Sensory neuron membrane protein 2; Short=HvirSNMP-2	1,36E-110	117,52	2,27E-06
Snon_454_illumina_rep_c4869	gi 376001380 ref ZP_09779250.1 putative (Myosin heavy-chain) kinase [Arthrospira sp. PCC 8005]	6,57E-11	113,87	1,93E-06
Snon_454_illumina_rep_c18960	gi 378725098 gb AFC35302.1 diapause associated protein 3 [Antheraea pernyi]	6,60E-27	110,20	5,55E-11
Snon_454_illumina_rep_c29173	gi 389608785 dbj BAM18004.1 unknown unsecreted protein [Papilio xuthus]	5,37E-23	97,91	1,48E-05
Snon_454_illumina_rep_c49927	gi 6560653 gb AAF16704.1 AF117582_1calcyphosine-like protein [Manduca sexta]	5,15E-90	88,62	7,93E-07
Snon_454_illumina_rep_c48901	gi 260908002 gb ACX53800.1 chemosensory protein [Heliothis virescens]	1,53E-41	82,86	2,65E-12
Snon_454_illumina_rep_c3123	gi 6560653 gb AAF16704.1 AF117582_1calcyphosine-like protein [Manduca sexta]	3,10E-101	79,33	1,09E-05
Snon_454_illumina_rep_c13760	gi 380875709 gb AFF27579.1 glutathione S-transferase S protein [Spodoptera exigua]	9,90E-79	74,37	6,72E-06
Snon_454_illumina_rep_c7978	gi 44976947 gb AAS49922.1 pheromone binding protein 1 precursor [Sesamia nonagrioides]	2,79E-40	70,63	1,58E-11
Snon_454_illumina_rep_c5205	gi 354549523 gb AER27818.1 cuticular protein RR-1 motif 32 [Antheraea yamamai]	8,58E-45	67,13	3,58E-07
Snon_454_illumina_rep_c1384	gi 18254383 gb AAL66739.1 AF461143_1pheromone binding protein 4 [Mamestra brassicae]	6,96E-58	60,56	2,22E-07
Snon_454_illumina_rep_c4676	gi 389608785 dbj BAM18004.1 unknown unsecreted protein [Papilio xuthus]	5,69E-23	57,79	9,94E-13
Snon_454_illumina_rep_c9470	gi 357630525 gb EHJ78584.1 hypothetical protein KGM_00173 [Danaus plexippus]	6,35E-44	53,47	2,91E-08
Snon_454_illumina_rep_c4383	gi 328705463 ref XP_003242815.1 PREDICTED: hypothetical protein LOC100570122 [Acyrtosiphon pisum]	1,03E-99	53,15	3,19E-07
Snon_454_illumina_c24554	gi 157704369 gb ABV68873.1 cecropin D [Trichoplusia ni]	1,41E-18	46,59	2,90E-07
Snon_454_illumina_c8699	gi 357617500 gb EHJ70829.1 neuropeptide receptor A4 [Danaus plexippus]	5,35E-175	45,00	2,14E-07
Snon_454_illumina_c22139	gi 357628372 gb EHJ77726.1 hypothetical protein KGM_05619 [Danaus plexippus]	0,00E+00	41,13	6,03E-14
Snon_454_illumina_rep_c5022	gi 147825453 emb CAN73240.1 hypothetical protein VITISV_035336 [Vitis vinifera]	1,93E-23	37,33	1,45E-12
	gi 291221329 ref XP_002730674.1 PREDICTED: RETRtransposon-like family member (retr-1)-like [Saccoglossus kowalevskii]	0,00E+00	36,29	3,73E-12
Snon_454_illumina_c5083	gi 357618740 gb EHJ71609.1 hypothetical protein KGM_09380 [Danaus plexippus]	2,27E-08	33,07	7,25E-09
Snon_454_illumina_rep_c29581	gi 189239114 ref XP_001813413.1 PREDICTED: similar to copia-type polyprotein, putative [Tribolium castaneum]	1,32E-127	32,48	1,74E-05
Snon_454_illumina_rep_c174	gi 326670276 ref XP_003199179.1 PREDICTED: uncharacterized protein K02A2.6-like [Danio rerio]	1,81E-169	31,17	1,68E-05
Snon_454_illumina_rep_c1158	gi 260908002 gb ACX53800.1 chemosensory protein [Heliothis virescens]	1,11E-47	30,56	1,75E-10
Snon_454_illumina_rep_c10749	gi 357613991 gb EHJ68838.1 hypothetical protein KGM_16530 [Danaus plexippus]	4,92E-08	29,17	1,25E-05
Snon_454_illumina_rep_c1178	gi 389611670 dbj BAM19419.1 cytochrome P450 4c3 [Papilio xuthus]	5,83E-66	27,42	6,66E-06
Snon_454_illumina_rep_c9991	gi 112983064 ref NP_001036935.1 A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs like precursor [Bombyx mori]	0,00E+00	25,95	6,46E-06
Snon_454_illumina_rep_c56	gi 160221248 gb ABX11259.1 superoxide dismutase [Spodoptera exigua]	4,67E-72	24,52	2,65E-13
Snon_454_illumina_rep_c2080	gi 389611670 dbj BAM19419.1 cytochrome P450 4c3 [Papilio xuthus]	3,09E-34	24,49	2,81E-06
Snon_454_illumina_rep_c368	gi 391324997 ref XP_003737027.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC100906527 [Metaseiulus occidentalis]	5,48E-125	21,65	2,33E-06
Snon_454_illumina_rep_c1536	gi 260908002 gb ACX53800.1 chemosensory protein [Heliothis virescens]	7,30E-48	15,88	1,92E-06
Snon_454_illumina_rep_c1367				

Supplementary information S4: Distribution of *Sesamia nonagrioides* contigs annotated at GO level 2 in the female adult antennae of the French (A) and the Kenyan (B) populations.

Female antennae



Supplementary information S5: List of contigs differentially expressed in female adult ovipositors between the French and the Kenyan populations of *Sesamia nonagrioides* (p-value FDR<0.01). Only contigs with a blast hit are presented. Grey lines: contigs enriched in the French population. White lines: contigs enriched in the Kenyan population. (Pop Spec: contigs found to be expressed in only one population).

Contig ID (Lepidodb)	Best BLASTX Hit	E-Value	Fold Change (France/Kenya)	p-value
Snon_454_illumina_rep_c5505	gi 164448660 ref NP_001106742.1 cytochrome c oxidase polypeptide Vb [Bombyx mori]	3,34E-61	Pop Spec	2,18E-05
Snon_454_illumina_rep_c23600	gi 270010025 gb EFA06473.1 hypothetical protein TcasGA2_TC009358 [Tribolium castaneum]	9,41E-23	Pop Spec	3,70E-07
Snon_454_illumina_rep_c49065	gi 290562019 ref NP_001166824.1 myofilin isoform B [Bombyx mori]	7,59E-29	Pop Spec	3,31E-08
Snon_454_illumina_rep_c27335	gi 313506246 gb ADR64702.1 antennal esterase CXE5 [Spodoptera exigua]	1,19E-100	Pop Spec	2,49E-05
Snon_454_illumina_rep_c6370	gi 357612252 gb EHJ67882.1 hypothetical protein KGM_13814 [Danaus plexippus]	3,41E-49	Pop Spec	2,81E-05
Snon_454_illumina_rep_c50379	gi 357622059 gb EHJ73675.1 putative secreted peptide 30 [Danaus plexippus]	4,22E-28	Pop Spec	5,01E-06
Snon_454_illumina_rep_c2369	gi 385275513 gb AFI57167.1 odorant-binding protein 18 [Helicoverpa armigera]	5,87E-45	1278,4000	1,67E-12
Snon_454_illumina_rep_c110	gi 21759389 sp Q962U1.1 RL13_SPOFRRecName: Full=60S ribosomal protein L13	1,67E-80	975,7333	1,41E-11
Snon_454_illumina_rep_c42554	gi 357611095 gb EHJ67309.1 hypothetical protein KGM_13943 [Danaus plexippus]	2,21E-94	887,2000	4,71E-08
Snon_454_illumina_rep_c9490	gi 41016817 sp P83651.1 ALO1_ACRLORecName: Full=Antimicrobial peptide Alo-1	4,25E-15	666,4000	5,44E-07
Snon_454_illumina_c18446	gi 357615956 gb EHJ69920.1 hypothetical protein KGM_18289 [Danaus plexippus]	1,01E-32	568,0000	1,21E-09
Snon_454_illumina_rep_c24199	gi 21898574 gb AAM77040.1 chemosensory protein 2 [Heliothis virescens]	2,27E-54	564,6000	2,50E-10
Snon_454_illumina_rep_c9753	gi 357609459 gb EHJ66462.1 hypothetical protein KGM_08221 [Danaus plexippus]	7,68E-110	561,6000	2,23E-06
Snon_454_illumina_rep_c6395	gi 389614936 dbj BAM20470.1 simila to CG3823, partial [Papilio polytes]	1,97E-28	504,8000	5,22E-06
Snon_454_illumina_rep_c30232	gi 365919040 gb AEX07267.1 CSP6 [Helicoverpa armigera]	4,64E-46	500,2667	3,52E-09
Snon_454_illumina_rep_c7055	gi 357625425 gb EHJ75880.1 hypothetical protein KGM_06150 [Danaus plexippus]	2,08E-25	467,2000	9,53E-06
Snon_454_illumina_rep_c51809	gi 357628853 gb EHJ78008.1 hypothetical protein KGM_06637 [Danaus plexippus]	3,37E-12	464,2667	3,20E-11
Snon_454_illumina_rep_c1335	gi 307197722 gb EFN78871.1 hypothetical protein EAL_02279 [Harpegnathos saltator]	8,65E-35	441,2571	8,80E-11
Snon_454_illumina_rep_c364	gi 389610961 dbj BAM19091.1 thioredoxin-2 [Papilio polytes]	2,86E-48	447,2000	1,33E-05
Snon_454_illumina_rep_c88	gi 389610533 dbj BAM18878.1 elongation factor 1 alpha [Papilio polytes]	0	399,6000	1,53E-10
Snon_454_illumina_rep_c5219	gi 389608383 dbj BAM17801.1 ribosomal protein L11 [Papilio xuthus]	2,58E-79	378,4000	4,56E-05
Snon_454_illumina_rep_c21437	gi 344257814 gb EGW13918.1 Serum response factor-binding protein 1 [Cricetulus griseus]	4,34E-10	373,6000	5,00E-05
Snon_454_illumina_rep_c2502	gi 389608825 dbj BAM18024.1 unknown unsecreted protein [Papilio xuthus]	5,62E-26	369,2000	6,14E-07
Snon_454_illumina_rep_c27270	gi 170041628 ref XP_001848558.1 ATP synthase a chain [Culex quinquefasciatus]	7,19E-10	352,0000	7,60E-05
Snon_454_illumina_rep_c259	gi 156763634 gb ABU94676.1 alpha-tubulin [Xestia cni-grum]	0	329,9158	1,21E-11
Snon_454_illumina_rep_c50216	gi 328670889 gb AEB26321.1 annexin IX [Helicoverpa armigera]	4,76E-55	329,2000	1,57E-06
Snon_454_illumina_rep_c11527	gi 290560636 ref NP_001166701.1 cuticular protein RR-1 motif 56 precursor [Bombyx mori]	4,28E-28	324,8000	1,75E-06
Snon_454_illumina_rep_c5870	gi 28627569 gb AAL83698.1 translation elongation factor 2 [Spodoptera exigua]	0	320,4000	3,10E-09
Snon_454_illumina_rep_c13333	gi 357621156 gb EHJ73088.1 muscle-specific protein 300 [Danaus plexippus]	3,50E-152	318,5600	8,24E-09
Snon_454_illumina_rep_c16188	gi 357628489 gb EHJ77802.1 putative glycerol-3-phosphate acyltransferase [Danaus plexippus]	5,06E-10	304,8000	2,90E-06
Snon_454_illumina_rep_c1735	gi 73671225 gb AAZ80044.1 diapause bioclock protein [Bombyx mandarina]	9,06E-53	299,2000	3,37E-06
Snon_454_illumina_rep_c6414	gi 94471737 gb ABF21088.1 period [Bombyx mori]	9,19E-39	292,6667	6,43E-09
Snon_454_illumina_rep_c6720	gi 242019568 ref XP_002430232.1 muscle lim protein, putative [Pediculus humanus corporis]	2,85E-13	287,2000	3,57E-09
Snon_454_illumina_rep_c15673	gi 114051415 ref NP_001040315.1 glutamyl-tRNA amidotransferase subunit B [Bombyx mori]	2,81E-98	282,8000	7,57E-08
Snon_454_illumina_rep_c5221	gi 371571161 emb CCF23426.1 Protein LEA-1, isoform K [Caenorhabditis elegans]	5,41E-12	279,8737	1,29E-10
Snon_454_illumina_rep_c1789	gi 357621583 gb EHJ73374.1 hypothetical protein KGM_19050 [Danaus plexippus]	4,78E-53	277,6000	2,54E-08
Snon_454_illumina_rep_c3108	gi 166014096 gb ABA54273.2 90 kDa heat shock protein 83 [Sesamia nonagrioides]	0	263,8000	1,34E-07
Snon_454_illumina_rep_c317	gi 385275513 gb AFI57167.1 odorant-binding protein 18 [Helicoverpa armigera]	2,06E-49	240,7467	7,23E-10
Snon_454_illumina_rep_c3644	gi 312451917 gb ADQ86007.1 death-associated LIM-only protein [Helicoverpa armigera]	7,19E-95	240,5000	2,12E-10
Snon_454_illumina_rep_c2155	gi 112983550 ref NP_001036879.1 nimrod B precursor [Bombyx mori]	1,85E-56	240,3000	7,94E-09
Snon_454_illumina_rep_c3661	gi 357615523 gb EHJ69709.1 sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase [Danaus plexippus]	2,09E-128	240,0000	2,61E-10
Snon_454_illumina_rep_c7056	gi 357625725 gb EHJ76074.1 troponin C [Danaus plexippus]	1,55E-80	237,2324	1,04E-10
Snon_454_illumina_c13291	gi 328700758 ref XP_003241371.1 PREDICTED: putative nuclease HARBI1-like [Acyrtosiphon pisum]	1,25E-87	230,5600	4,36E-10
Snon_454_illumina_rep_c2004	gi 389615405 dbj BAM20677.1 simila to CG1648, partial [Papilio polytes]	8,89E-57	226,7200	4,81E-09
Snon_454_illumina_rep_c38930	gi 28627569 gb AAL83698.1 translation elongation factor 2 [Spodoptera exigua]	0	216,5333	3,59E-06
Snon_454_illumina_rep_c7603	gi 114051415 ref NP_001040315.1 glutamyl-tRNA amidotransferase subunit B [Bombyx mori]	7,40E-112	214,6800	7,20E-10
Snon_454_illumina_rep_c8608	gi 357608006 gb EHJ65776.1 putative restin [Danaus plexippus]	5,56E-33	213,2000	8,30E-08
Snon_454_illumina_rep_c989	gi 38371702 ref NP_941973.1 RNA polymerase [Uukuniemi virus]	5,10E-58	206,1333	5,27E-06
Snon_454_illumina_rep_c5928	gi 389611353 dbj BAM19288.1 bcr-associated protein, bap [Papilio polytes]	4,49E-21	203,2000	1,22E-07
Snon_454_illumina_rep_c4079	gi 85726208 gb ABC79625.1 imaginal disc growth factor-like protein [Mamestra brassicae]	5,15E-145	201,6000	1,19E-06
Snon_454_illumina_rep_c25014	gi 260907998 gb ACX53798.1 aldo-keto reductase [Heliothis virescens]	2,25E-148	194,9333	8,10E-06
Snon_454_illumina_rep_c5910	gi 7272336 gb AAF44717.1 L47123_1ferritin [Manduca sexta]	3,10E-97	188,9333	2,19E-07
Snon_454_illumina_rep_c2060	gi 183979372 dbj BAG30738.1 troponin T [Papilio xuthus]	1,67E-134	180,9941	1,31E-10
Snon_454_illumina_rep_c17093	gi 357617514 gb EHJ70838.1 hypothetical protein KGM_11922 [Danaus plexippus]	4,01E-71	178,0444	4,93E-08
Snon_454_illumina_rep_c3938	gi 357620662 gb EHJ72779.1 hypothetical protein KGM_02666 [Danaus plexippus]	4,64E-56	164,8000	9,01E-08
Snon_454_illumina_rep_c1094	gi 28627569 gb AAL83698.1 translation elongation factor 2 [Spodoptera exigua]	0	152,0889	1,68E-07
Snon_454_illumina_rep_c8984	gi 260907912 gb ACX53757.1 DUF233 protein [Heliothis virescens]	2,46E-47	151,9200	1,06E-07
Snon_454_illumina_rep_c14434	gi 389609129 dbj BAM18176.1 yellow-x [Papilio xuthus]	8,07E-49	150,5846	3,88E-08
Snon_454_illumina_rep_c50010	gi 158962511 dbj BAF91716.1 chemosensory protein [Papilio xuthus]	4,48E-33	145,5000	4,11E-07
Snon_454_illumina_rep_c6769	gi 183979376 dbj BAG30740.1 muscle myosin heavy chain [Papilio xuthus]	7,11E-107	138,7120	9,52E-10
Snon_454_illumina_rep_c11093	gi 357628489 gb EHJ77802.1 putative glycerol-3-phosphate acyltransferase [Danaus plexippus]	4,27E-39	137,2000	2,44E-08
Snon_454_illumina_rep_c50344	gi 313247974 gb ADR51150.1 cobatoxin [Helicoverpa armigera]	2,23E-24	136,7000	6,68E-07
Snon_454_illumina_rep_c5900	gi 357615610 gb EHJ69750.1 putative pol-like protein [Danaus plexippus]	1,46E-33	135,4000	2,49E-05

Snon_454_illumina_rep_c48879	gi 389610783 dbj BAM19002.1 fau protein [Papilio polytes]	6,50E-16	131,7000	8,91E-07
Snon_454_illumina_rep_c10370	gi 91087353 ref XP_975616.1 PREDICTED: similar to conserved hypothetical protein [Tribolium castaneum]	1,87E-44	122,8000	6,28E-06
Snon_454_illumina_rep_c3101	gi 357619405 gb EHJ71995.1 hypothetical protein KGM_00654 [Danaus plexippus]	1,44E-06	117,4333	3,12E-08
Snon_454_illumina_rep_c5651	gi 357628541 gb EHJ77836.1 hypothetical protein KGM_02734 [Danaus plexippus]	1,05E-38	110,4000	6,49E-06
Snon_454_illumina_rep_c3452	gi 114052116 ref NP_001040454.1 ML-domain containing secreted protein precursor [Bombyx mori]	1,67E-37	110,1000	3,49E-06
Snon_454_illumina_rep_c9678	gi 315306480 gb ADU03994.1 saposin-like protein [Bombyx mori]	1,85E-33	108,5600	1,39E-06
Snon_454_illumina_rep_c514	gi 389610655 dbj BAM18939.1 polyA-binding protein [Papilio polytes]	3,09E-132	106,5297	2,09E-08
Snon_454_illumina_rep_c12226	gi 74844658 sp Q95V34.1 RS4_SPOFRRecName: Full=40S ribosomal protein S4	4,46E-99	101,6000	6,16E-05
Snon_454_illumina_c17525	gi 357624570 gb EHJ75294.1 hypothetical protein KGM_08309 [Danaus plexippus]	1,08E-119	101,4857	5,62E-07
Snon_454_illumina_rep_c9460	gi 28627569 gb AAL83698.1 translation elongation factor 2 [Spodoptera exigua]	6,03E-96	100,4800	6,65E-05
Snon_454_illumina_rep_c2444	gi 389610095 dbj BAM18659.1 unknown secreted protein [Papilio xuthus]	1,96E-43	99,6000	1,00E-07
Snon_454_illumina_rep_c49064	gi 260907988 gb ACX53793.1 DUF233 protein [Heliothis virescens]	1,58E-46	97,4667	3,40E-05
Snon_454_illumina_rep_c6456	gi 357617514 gb EHJ70838.1 hypothetical protein KGM_11922 [Danaus plexippus]	8,23E-116	95,6571	1,86E-05
Snon_454_illumina_rep_c2681	gi 357609221 gb EHJ66352.1 hypothetical protein KGM_03290 [Danaus plexippus]	8,68E-126	87,4000	3,18E-06
Snon_454_illumina_rep_c4111	gi 183979251 dbj BAG30787.1 hypothetical protein [Papilio xuthus]	1,84E-121	83,5429	4,84E-05
Snon_454_illumina_rep_c1943	gi 389610095 dbj BAM18659.1 unknown secreted protein [Papilio xuthus]	2,23E-33	82,4000	7,07E-06
Snon_454_illumina_c28553	gi 296005647 ref YP_003622540.1 polyprotein [Slow bee paralysis virus]	1,81E-14	79,8222	2,14E-05
Snon_454_illumina_c33564	gi 114842189 dbj BAF32579.1 polyprotein [Kakugo virus]	1,38E-16	78,9818	9,60E-06
Snon_454_illumina_rep_c50157	gi 357614996 gb EHJ69418.1 hypothetical protein KGM_16387 [Danaus plexippus]	8,60E-24	77,8667	2,54E-05
Snon_454_illumina_rep_c7983	gi 357625293 gb EHJ75789.1 hypothetical protein KGM_08594 [Danaus plexippus]	8,14E-92	73,1238	1,99E-07
Snon_454_illumina_rep_c1	gi 301070170 gb ADK55526.1 polyprotein [Deformed wing virus]	4,27E-46	64,3972	3,20E-08
Snon_454_illumina_rep_c2	gi 56121876 ref YP_145791.1 polyprotein [Varroa destructor virus-1]	0	63,1343	3,32E-08
Snon_454_illumina_c9661	gi 357622609 gb EHJ74035.1 putative pol-like protein [Danaus plexippus]	1,72E-64	58,1333	5,67E-05
Snon_454_illumina_rep_c5090	gi 357604248 gb EHJ64108.1 hypothetical protein KGM_11877 [Danaus plexippus]	0	52,2667	4,86E-05
Snon_454_illumina_rep_c754	gi 40022264 gb AAR37334.1 diazepam-binding inhibitor [Helicoverpa armigera]	1,82E-38	40,6222	5,41E-06
Snon_454_illumina_rep_c7591	gi 357631689 gb EHJ79158.1 hypothetical protein KGM_15449 [Danaus plexippus]	4,02E-160	40,3000	5,20E-05
Snon_454_illumina_rep_c4663	gi 307695425 gb ADN84928.1 actin [Helicoverpa armigera]	6,62E-85	39,7046	8,47E-07
Snon_454_illumina_rep_c5525	gi 84801 pir S08405hypothetical protein 2 - silkworm transposon mag	0	37,8049	3,80E-06
Snon_454_illumina_rep_c104	gi 389608785 dbj BAM18004.1 unknown unsecreted protein [Papilio xuthus]	1,51E-22	35,6750	4,73E-05
Snon_454_illumina_rep_c10989	gi 328724827 ref XP_003248262.1 PREDICTED: putative nuclease HARB1-like [Acyrtosiphon pisum]	5,16E-13	34,3500	6,01E-05
Snon_454_illumina_rep_c15714	gi 164451507 gb ABY56688.1 troponin I [Loxostege sticticalis]	9,74E-40	32,6490	2,33E-06
Snon_454_illumina_rep_c3310	gi 357616374 gb EHJ70158.1 hypothetical protein KGM_07404 [Danaus plexippus]	1,39E-57	30,2025	6,00E-06
Snon_454_illumina_rep_c5949	gi 208972549 gb ACI32835.1 serine proteinase-like protein 1 [Helicoverpa armigera]	1,79E-47	28,8833	6,06E-05
Snon_454_illumina_rep_c1803	gi 112983550 ref NP_001036879.1 nimrod B precursor [Bombyx mori]	5,07E-73	27,2955	4,08E-05
Snon_454_illumina_rep_c8453	gi 255068805 emb CBA11992.1 endonuclease-reverse transcriptase HmRTE-e01 [Heliconius melpomene]	6,81E-24	25,8870	9,21E-06
Snon_454_illumina_rep_c721	gi 389610095 dbj BAM18659.1 unknown secreted protein [Papilio xuthus]	2,29E-54	25,5808	8,37E-06
Snon_454_illumina_rep_c820	gi 116788150 gb ABK24774.1 unknown [Picea sitchensis]	1,38E-11	25,5729	2,29E-05
Snon_454_illumina_rep_c20850	gi 358336555 dbj GAA55031.1 ubiquitin C [Clonorchis sinensis]	3,75E-72	23,4324	2,27E-05
Snon_454_illumina_rep_c4241	gi 270016830 gb EFA13276.1 hypothetical protein TcasGA2_TC016027 [Tribolium castaneum]	1,07E-77	16,5106	6,61E-05
Snon_454_illumina_rep_c5643	gi 148298707 ref NP_001091800.1 uncharacterized protein LOC778505 [Bombyx mori]	2,40E-52	Pop Spec	4,15E-05
Snon_454_illumina_rep_c4453	gi 189238710 ref XP_969341.2 PREDICTED: similar to AGAP009638-PA [Tribolium castaneum]	8,49E-67	Pop Spec	7,33E-06
Snon_454_illumina_rep_c27009	gi 189463643 ref ZP_03012428.1 hypothetical protein BACCOP_04367 [Bacteroides coprocola DSM 17136]	5,05E-25	Pop Spec	3,13E-12
Snon_454_illumina_rep_c346	gi 225580674 gb ACN94442.1 protease/RNA-dependent RNA polymerase, partial [Nasonia vitripennis virus]	3,99E-71	Pop Spec	5,97E-05
Snon_454_illumina_rep_c271	gi 339906843 ref YP_004734371.1 cytochrome b [Sesamia inferens]	5,17E-77	Pop Spec	4,68E-05
Snon_454_illumina_rep_c8396	gi 357603257 gb EHJ63678.1 BAG domain-containing protein Samui [Danaus plexippus]	5,25E-38	Pop Spec	4,22E-08
Snon_454_illumina_rep_c8472	gi 357606999 gb EHJ65315.1 hypothetical protein KGM_13379 [Danaus plexippus]	1,26E-19	Pop Spec	7,64E-06
Snon_454_illumina_rep_c6766	gi 357618275 gb EHJ71317.1 hypothetical protein KGM_07282 [Danaus plexippus]	1,37E-31	Pop Spec	6,28E-05
Snon_454_illumina_rep_c9673	gi 357620429 gb EHJ72624.1 ribosomal protein S17 [Danaus plexippus]	2,06E-47	Pop Spec	6,48E-06
Snon_454_illumina_rep_c19841	gi 388484123 emb CCH85655.1 protein of unknown function [Modestobacter marinus]	1,64E-14	Pop Spec	1,11E-06
Snon_454_illumina_rep_c8381	gi 389611387 dbj BAM19305.1 nitrogen fixation protein nifu [Papilio polytes]	3,86E-16	Pop Spec	7,96E-06
Snon_454_illumina_rep_c12668	gi 389611522 dbj BAM19367.1 saposin, partial [Papilio xuthus]	8,58E-79	Pop Spec	1,30E-07
Snon_454_illumina_rep_c9068	gi 40022264 gb AAR37334.1 diazepam-binding inhibitor [Helicoverpa armigera]	1,81E-38	Pop Spec	8,67E-07
Snon_454_illumina_rep_c48887	gi 47457941 dbj BAD18973.2 60S ribosomal protein L13 [Antheraea yamamai]	1,20E-69	Pop Spec	6,82E-08
Snon_454_illumina_rep_c11738	gi 73671225 gb AAZ80044.1 diapause bioclock protein [Bombyx mandarina]	5,12E-53	Pop Spec	6,28E-05
Snon_454_illumina_c47319	gi 78057439 gb ABB17221.1 unknown [Operophtera brumata cyovirus 19]	0	Pop Spec	2,72E-05
Snon_454_illumina_rep_c35458	gi 18479011 gb AAL73387.1 AF409102_13-dehydrodysone 3b-reductase [Trichoplusia ni]	3,12E-50	1190,8333	5,83E-12
Snon_454_illumina_c29800	gi 242805359 ref XP_002484510.1 hypothetical protein TSTA_040370 [Talaromyces stipitatus ATCC 10500]	1,13E-52	1006,2500	5,02E-08
Snon_454_illumina_rep_c1393	gi 389608335 dbj BAM17779.1 similar to CG14207 [Papilio xuthus]	2,77E-48	993,7500	2,61E-11
Snon_454_illumina_rep_c48886	gi 26007526 gb AAF71290.2 AF255919_1chemosensory protein [Mamestra brassicae]	1,93E-52	975,3409	1,35E-13
Snon_454_illumina_rep_c136	gi 225580674 gb ACN94442.1 protease/RNA-dependent RNA polymerase, partial [Nasonia vitripennis virus]	0	806,0417	4,26E-12
Snon_454_illumina_rep_c13472	gi 160932606 ref ZP_02079996.1 hypothetical protein CLOLEP_01448 [Clostridium leptum DSM 753]	1,25E-18	797,1875	1,50E-12
Snon_454_illumina_rep_c6237	gi 389609751 dbj BAM18487.1 muscle LIM protein [Papilio xuthus]	3,18E-40	774,4531	2,62E-13
Snon_454_illumina_rep_c35239	gi 301015887 pdb 3M95 AChain A, Crystal Structure Of Autophagy-Related Protein Atg8 From The Silkworm Mori	9,06E-58	733,7500	7,88E-07
Snon_454_illumina_rep_c18224	gi 371606960 gb EHN95545.1 hypothetical protein ESOG_04481, partial [Escherichia coli E101]	1,26E-40	722,5000	8,98E-07
Snon_454_illumina_rep_c24757	gi 31340318 sp Q962U0.1 RL13A_SPOFRRecName: Full=60S ribosomal protein L13a	6,54E-99	698,7500	1,19E-06
Snon_454_illumina_rep_c8547	gi 357617514 gb EHJ70838.1 hypothetical protein KGM_11922 [Danaus plexippus]	1,09E-76	690,0000	8,61E-09
Snon_454_illumina_rep_c53	gi 225580674 gb ACN94442.1 protease/RNA-dependent RNA polymerase, partial [Nasonia vitripennis virus]	0	660,3571	1,03E-11
Snon_454_illumina_rep_c50533	gi 312451917 gb ADQ86007.1 death-associated LIM-only protein [Helicoverpa armigera]	1,42E-78	586,2500	5,03E-06
Snon_454_illumina_rep_c2315	gi 339241765 ref XP_003376808.1 retrovirus-related Pol polyprotein from transposon TNT 1-94 [Trichinella]	0	570,9375	5,30E-10
Snon_454_illumina_rep_c12362	gi 357619752 gb EHJ72205.1 putative Spectrin beta chain [Danaus plexippus]	3,57E-76	568,0000	1,64E-10
Snon_454_illumina_c41955	gi 357627179 gb EHJ76951.1 putative 1-acyl-sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase alpha [Danaus plexippus]	2,61E-74	565,0000	6,75E-06
Snon_454_illumina_rep_c4547	gi 4191598 gb AAD09820.1 sarco(endo)plasmic reticulum-type calcium ATPase [Heliothis virescens]	1,37E-144	526,8750	9,23E-08
Snon_454_illumina_rep_c48844	gi 290573149 ref NP_001166727.1 cuticular protein RR-1 motif 23 precursor [Bombyx mori]	2,54E-44	468,7500	2,84E-05
Snon_454_illumina_rep_c14389	gi 383341229 gb EID19494.1 hypothetical protein HMPREF1043_0706 [Streptococcus anginosus CCUG 39159]	2,41E-68	464,2647	7,47E-12
Snon_454_illumina_rep_c23687	gi 78033431 emb CAJ30046.1 hypothetical protein mgm1388 [Magnetospirillum gryphiswaldense MSR-1]	1,84E-31	458,1250	3,09E-07
Snon_454_illumina_rep_c6818	gi 189238710 ref XP_969341.2 PREDICTED: similar to AGAP009638-PA [Tribolium castaneum]	9,79E-80	443,3333	2,73E-08
Snon_454_illumina_rep_c5395	gi 66358028 ref XP_626192.1 polyubiquitin with 3 Ub domains [Cryptosporidium parvum Iowa II]	7,54E-49	434,1667	3,27E-08
Snon_454_illumina_rep_c1642	gi 112982986 ref NP_001037086.1 hemolin-interacting protein [Bombyx mori]	1,23E-61	420,0000	6,32E-05
Snon_454_illumina_rep_c7671	gi 357631134 gb EHJ78805.1 hypothetical protein KGM_13024 [Danaus plexippus]	2,94E-145	415,6944	1,33E-10
Snon_454_illumina_rep_c4024	gi 112982938 ref NP_001037099.1 chorion b-ZIP transcription factor [Bombyx mori]	1,50E-36	412,5000	7,18E-05
Snon_454_illumina_rep_c6134	gi 357631134 gb EHJ78805.1 hypothetical protein KGM_13024 [Danaus plexippus]	1,28E-18	388,1250	3,75E-10
Snon_454_illumina_rep_c582	gi 78033430 emb CAJ30045.1 conserved hypothetical protein [Magnetospirillum gryphiswaldense MSR-1]	1,04E-41	384,8214	4,90E-11
Snon_454_illumina_rep_c3694	gi 183979237 dbj BAG30780.1 muscle protein 20-like protein [Papilio xuthus]	2,52E-90	384,6160	1,83E-12
Snon_454_illumina_rep_c3045	gi 157064217 gb AAAY26452.2 heat shock cognate 70 protein [Sesamia nonagrioides]	0	359,0625	2,78E-08
Snon_454_illumina_rep_c14634	gi 237702455 ref ZP_04532936.1 LOW QUALITY PROTEIN: cell wall-associated hydrolase [Escherichia sp. AA]	1,51E-52	345,9167	8,63E-11
Snon_454_illumina_rep_c5021	gi 357628397 gb EHJ77741.1 hypothetical protein KGM_09131 [Danaus plexippus]	0	335,2500	2,02E-11
Snon_454_illumina_rep_c8780	gi 357622631 gb EHJ74057.1 amino acid transporter [Danaus plexippus]	4,61E-108	331,2500	4,55E-06

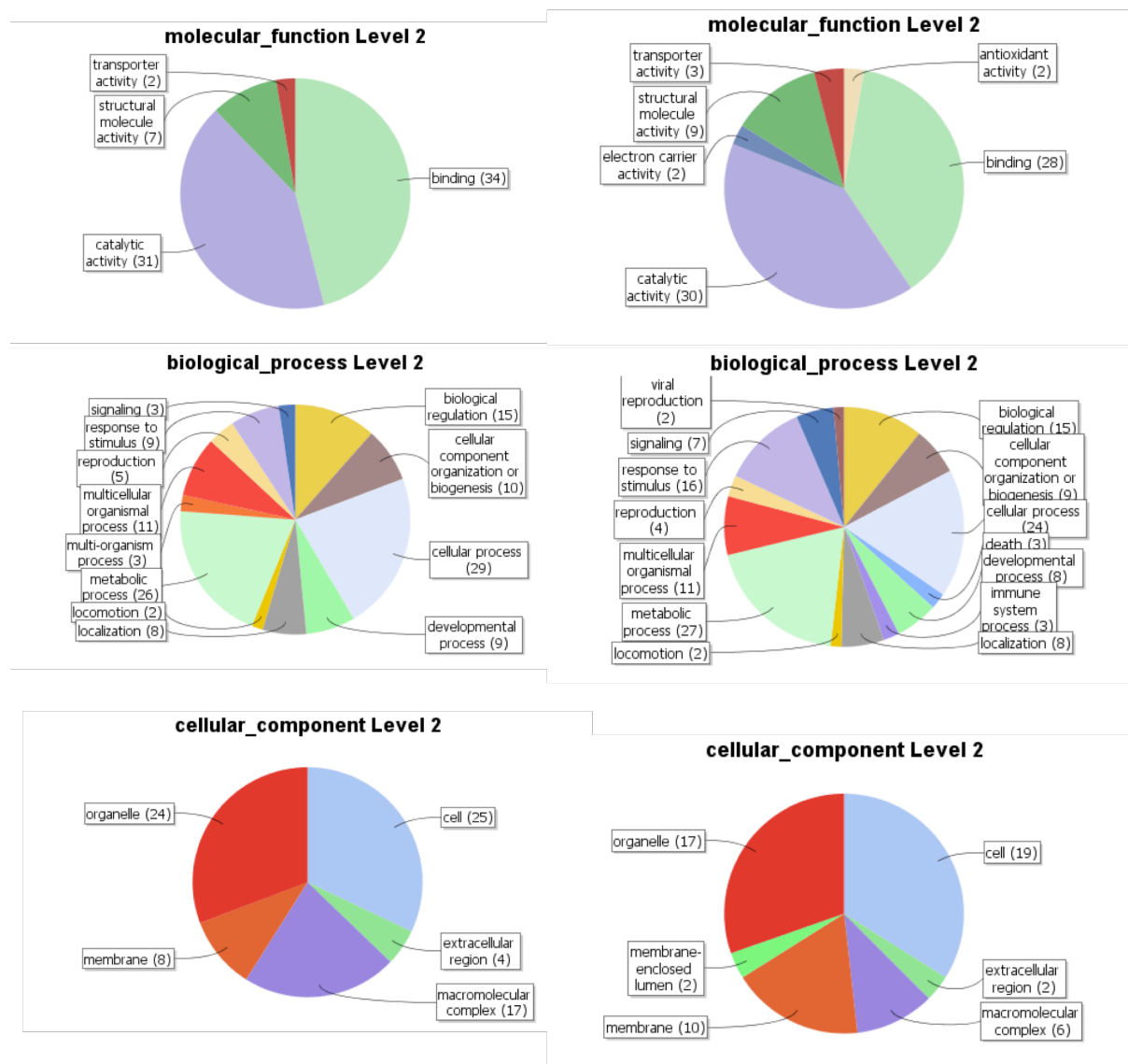
Snon_454_illumina_rep_c15303	gi 357626998 gb EHJ76861.1 hypothetical protein KGM_19505 [Danaus plexippus] gi 124512012 ref XP_001349139.1 conserved Plasmodium protein, unknown function [Plasmodium falciparum]	1,55E-88	329,1667	3,49E-07
Snon_454_illumina_rep_c29476		6,98E-18	325,6250	5,21E-06
Snon_454_illumina_rep_c12548	gi 357605666 gb EHJ64728.1 hypothetical protein KGM_21778 [Danaus plexippus]	1,13E-98	313,7500	8,75E-08
Snon_454_illumina_rep_c32271	gi 78033430 emb CAJ30045.1 conserved hypothetical protein [Magnetospirillum gryphiswaldense MSR-1]	1,37E-13	313,4375	8,83E-08
Snon_454_illumina_rep_c492	gi 225580674 gb ACN94442.1 protease/RNA-dependent RNA polymerase, partial [Nasonia vitripennis virus]	1,23E-147	310,2500	2,60E-08
Snon_454_illumina_rep_c5422	gi 307197722 gb EFN78871.1 hypothetical protein EAI_02279 [Harpegnathos saltator] gi 391348265 ref XP_003748368.1 PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: polyubiquitin-A-like [Metaseiulus alis]	9,39E-31	300,8333	7,42E-07
Snon_454_illumina_rep_c21456	gi 389614656 dbj BAM20360.1 DEAD box ATP-dependent RNA helicase [Papilio polytes]	5,76E-33	284,5833	1,17E-06
Snon_454_illumina_rep_c16747	gi 389610095 dbj BAM18659.1 unknown secreted protein [Papilio xuthus]	1,43E-32	268,1250	3,28E-07
Snon_454_illumina_rep_c16861	gi 357631134 gb EHJ78805.1 hypothetical protein KGM_13024 [Danaus plexippus]	8,79E-29	258,2031	6,07E-10
Snon_454_illumina_rep_c7375	gi 357609297 gb EHJ66387.1 hypothetical protein KGM_05821 [Danaus plexippus]	3,45E-32	256,9079	3,71E-10
Snon_454_illumina_rep_c6132	gi 387966745 gb AFK14100.1 small heat shock protein 22.0 [Spodoptera litura]	6,86E-133	249,8958	2,19E-09
Snon_454_illumina_rep_c49183	gi 122894084 gb ABM67688.1 chemosensory protein CSP1 [Spodoptera exigua]	7,01E-85	249,1667	3,45E-06
Snon_454_illumina_rep_c49586	gi 38679393 gb AAR26518.1 antennal cytochrome P450 CYP9 [Mamestra brassicae]	9,17E-48	224,3269	3,69E-09
Snon_454_illumina_rep_c6739	gi 242009491 ref XP_002425519.1 conserved hypothetical protein [Pediculus humanus corporis]	2,71E-159	212,9167	1,18E-05
Snon_454_illumina_rep_c26046	gi 301070154 gb ADK55523.1 small heat shock protein [Spodoptera litura]	4,74E-14	207,0833	1,46E-05
Snon_454_illumina_rep_c49107	gi 256773186 ref NP_00157948.1 sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase [Bombyx mori]	9,93E-71	203,0000	8,80E-07
Snon_454_illumina_rep_c3136	gi 357626420 gb EHJ76517.1 hypothetical protein KGM_05776 [Danaus plexippus]	9,83E-96	201,2500	3,42E-07
Snon_454_illumina_rep_c4737	gi 189031276 gb ACD74811.1 eukaryotic initiation factor 5C [Helicoverpa armigera]	1,55E-29	196,6667	2,16E-05
Snon_454_illumina_rep_c49170	gi 56462326 gb AAV91446.1 hypothetical protein 33 [Lonomia obliqua]	9,51E-70	192,9167	4,83E-07
Snon_454_illumina_rep_c523	gi 114052116 ref NP_001040454.1 ML-domain containing secreted protein precursor [Bombyx mori]	3,35E-28	188,2500	4,46E-08
Snon_454_illumina_rep_c16597	gi 357631134 gb EHJ78805.1 hypothetical protein KGM_13024 [Danaus plexippus]	1,75E-35	186,0417	2,19E-08
Snon_454_illumina_rep_c50341	gi 357631134 gb EHJ78805.1 hypothetical protein KGM_13024 [Danaus plexippus]	4,11E-18	180,8333	4,01E-05
Snon_454_illumina_rep_c4154	gi 363896068 gb AEW43118.1 UDP-glycosyltransferase UGT33J1 [Helicoverpa armigera]	0	180,8333	4,01E-05
Snon_454_illumina_rep_c3128	gi 339247223 ref XP_003375245.1 putative integrase core domain protein [Trichinella spiralis]	0	176,5000	2,70E-06
Snon_454_illumina_rep_c33324	gi 78033430 emb CAJ30045.1 conserved hypothetical protein [Magnetospirillum gryphiswaldense MSR-1]	2,25E-32	172,5000	3,24E-06
Snon_454_illumina_rep_c49851	gi 234204059 gb ACQ91273.1 myosin heavy chain variant B [Bombyx mori]	2,06E-76	170,2757	4,79E-10
Snon_454_illumina_rep_c5470	gi 357606615 gb EHJ65137.1 hypothetical protein KGM_05510 [Danaus plexippus]	3,18E-39	165,8333	5,40E-08
Snon_454_illumina_rep_c9827	gi 357670509 gb EHJ65548.1 kettin protein [Danaus plexippus]	1,87E-82	148,5417	3,87E-06
Snon_454_illumina_rep_c42499	gi 357631134 gb EHJ78805.1 hypothetical protein KGM_13024 [Danaus plexippus]	1,91E-27	143,7500	4,99E-06
Snon_454_illumina_rep_c19101	gi 112982792 ref NP_001036897.1 Y-box protein [Bombyx mori]	2,46E-08	138,4167	8,68E-08
Snon_454_illumina_rep_c319861	gi 340518421 gb EGR48662.1 predicted protein [Trichoderma reesei QM6a]	4,66E-56	137,8125	2,29E-07
Snon_454_illumina_rep_c13949	gi 357614996 gb EHJ69418.1 hypothetical protein KGM_16387 [Danaus plexippus]	4,22E-55	135,2500	1,04E-07
Snon_454_illumina_rep_c15000	gi 357617119 gb EHJ70595.1 PFTAIR-Interacting factor 1A [Danaus plexippus]	1,95E-25	133,3333	8,87E-06
Snon_454_illumina_rep_c4869	gi 376001380 ref ZP_09779250.1 putative (Myosin heavy-chain) kinase [Arthrospira sp. PCC 8005]	6,57E-11	128,0000	9,39E-07
Snon_454_illumina_rep_c23186	gi 357612796 gb EHJ68171.1 hypothetical protein KGM_12573 [Danaus plexippus]	5,22E-68	127,1023	4,09E-08
Snon_454_illumina_rep_c10911	gi 357620905 gb EHJ72924.1 hypothetical protein KGM_19304 [Danaus plexippus]	2,54E-44	106,7188	1,10E-05
Snon_454_illumina_rep_c1384	gi 18254383 gb AAL66739.1 AF461143_1pheromone binding protein 4 [Mamestra brassicae]	6,96E-58	105,8000	1,04E-07
Snon_454_illumina_rep_c5868	gi 357625425 gb EHJ75880.1 hypothetical protein KGM_06150 [Danaus plexippus]	7,03E-63	99,1667	7,63E-05
Snon_454_illumina_rep_c38104	gi 242805359 ref XP_002484510.1 hypothetical protein TSTA_040370 [Talaromyces stipitatus ATCC 10500]	3,44E-25	98,7500	1,11E-05
Snon_454_illumina_rep_c1815	gi 385818781 ref YP_005855168.1 hypothetical protein [Lactobacillus casei LC2W]	1,43E-45	92,3818	2,14E-08
Snon_454_illumina_rep_c49305	gi 156891151 gb ABU96713.1 diapausin precursor [Spodoptera litura]	1,49E-20	90,0806	1,70E-07
Snon_454_illumina_rep_c777	gi 18479021 gb AAL73387.1 AF409102_13-dehydrodysone 3b-reductase [Trichoplusia ni]	4,88E-115	86,6978	3,79E-08
Snon_454_illumina_rep_c21	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus] gi 391341193 PREDICTED: RNA-directed DNA polymerase from mobile element jockey-like [Metaseiulus alis]	0	83,8542	1,85E-07
Snon_454_illumina_rep_c7303	gi 225346691 gb ACN86368.1 troponin I transcript variant A [Bombyx mandarina]	1,69E-29	83,4000	5,82E-07
Snon_454_illumina_rep_c3860	gi 291221329 ref XP_002730674.1 PREDICTED: RETRotransposon-like family member (retr-1)-like [Saccoglossus skii]	2,43E-64	79,9286	3,31E-08
Snon_454_illumina_c5083	gi 116833117 gb ABK29471.1 CHK1 checkpoint-like protein [Helicoverpa armigera]	0	75,5469	6,30E-06
Snon_454_illumina_rep_c20861	gi 357623350 gb EHJ74546.1 hypothetical protein KGM_21024 [Danaus plexippus]	2,14E-19	74,8864	3,29E-05
Snon_454_illumina_c16674	gi 56462256 gb AAV91411.1 myosin 1 light chain [Lonomia obliqua]	0	73,2955	3,82E-05
Snon_454_illumina_rep_c12269	gi 28209839 ref NP_780783.1 hypothetical protein CTC00065 [Clostridium tetani E88]	2,28E-13	69,6094	1,13E-05
Snon_454_illumina_rep_c11067	gi 145690675 gb ABP91180.1 unknown protein [Streptococcus suis 98HAH33]	4,35E-68	66,0505	1,28E-07
Snon_454_illumina_rep_c9681	gi 156546886 ref NP_001037028.1 ornithine decarboxylase antizyme 1 [Bombyx mori]	3,27E-63	64,7727	1,45E-06
Snon_454_illumina_rep_c8117	gi 389613539 dbj BAM20108.1 sarcomere length short, partial [Papilio xuthus]	9,83E-64	63,3173	3,65E-06
Snon_454_illumina_rep_c15796	gi 3576479883 ref XP_003610227.1 Ycf68 [Medicago truncatula]	1,21E-30	60,4412	2,41E-05
Snon_454_illumina_rep_c2988	gi 385275513 gb AFI57167.1 odorant-binding protein 18 [Helicoverpa armigera]	2,45E-49	55,4379	1,79E-07
Snon_454_illumina_rep_c3302	gi 189234033 ref XP_001807972.1 PREDICTED: similar to protease, reverse transcriptase, ribonuclease H, [Tribolium castaneum]	2,26E-49	53,6818	1,34E-06
Snon_454_illumina_rep_c3670	gi 357617119 gb EHJ70595.1 PFTAIR-Interacting factor 1A [Danaus plexippus]	0	53,5565	5,79E-07
Snon_454_illumina_rep_c34733	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	3,64E-41	52,2074	5,65E-07
Snon_454_illumina_rep_c20	gi 357622071 gb EHJ73683.1 putative copper-zinc superoxide dismutase [Danaus plexippus]	0	51,8095	2,31E-07
Snon_454_illumina_rep_c12585	gi 282931691 ref ZP_06337182.1 conserved hypothetical protein [Lactobacillus jensenii 208-1]	6,74E-109	50,7759	1,17E-05
Snon_454_illumina_rep_c10684	gi 357622701 gb EHJ74119.1 down syndrome cell adhesion molecule [Danaus plexippus]	1,29E-37	48,5897	4,50E-07
Snon_454_illumina_rep_c33762	gi 357617779 gb EHJ70988.1 hypothetical protein KGM_02800 [Danaus plexippus]	6,33E-44	46,4344	8,00E-07
Snon_454_illumina_rep_c3252	gi 356561476 ref XP_003549007.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC100791537 [Glycine max]	2,19E-74	37,7443	9,07E-07
Snon_454_illumina_rep_c12	gi 189239114 ref XP_001813413.1 PREDICTED: similar to copia-type polyprotein, putative [Tribolium castaneum]	6,01E-61	37,2570	5,91E-07
Snon_454_illumina_rep_c174	gi 147825453 emb CAN73240.1 hypothetical protein VITISV_035336 [Vitis vinifera]	1,32E-127	37,0799	1,47E-06
Snon_454_illumina_rep_c5022	gi 357610992 gb EHJ67258.1 hypothetical protein KGM_16001 [Danaus plexippus]	1,93E-23	36,0061	3,96E-05
Snon_454_illumina_rep_c7038	gi 260908020 gb ACX53809.1 DUF233 protein [Heliothis virescens]	1,83E-121	34,5422	1,83E-06
Snon_454_illumina_rep_c42857	gi 300973359 ref ZP_07172160.1 hypothetical protein HMPREF9553_00243 [Escherichia coli MS 200-1]	1,88E-74	32,6645	1,54E-06
Snon_454_illumina_rep_c22704	gi 13359451 dbj BAB33421.1 putative senescence-associated protein [Pisum sativum]	3,93E-66	29,5292	9,09E-06
Snon_454_illumina_c34305	gi 153217685 ref ZP_01951366.1 conserved hypothetical protein [Vibrio cholerae 1587]	4,27E-15	28,7641	8,93E-06
Snon_454_illumina_rep_c6797	gi 326670276 ref XP_003199179.1 PREDICTED: uncharacterized protein K02A.6-like [Danio rerio]	1,18E-38	27,8792	1,07E-05
Snon_454_illumina_rep_c1158	gi 115515395 gb ABJ03470.1 conserved hypothetical protein [Escherichia coli APEC O1]	1,81E-169	27,2778	1,19E-05
Snon_454_illumina_rep_c2852	gi 34610127 ref NP_919029.1 polyprotein [Ectropis obliqua picorna-like virus]	1,92E-93	26,9397	3,94E-06
Snon_454_illumina_rep_c4	gi 357621799 gb EHJ73508.1 hypothetical protein KGM_09112 [Danaus plexippus]	0	26,3939	8,69E-06
Snon_454_illumina_rep_c11736	gi 290560610 ref NP_001166637.1 cuticular protein RR-2 motif 133 precursor [Bombyx mori]	0	25,0646	1,61E-05
Snon_454_illumina_rep_c37140	gi 270013031 gb EFA09479.1 hypothetical protein TcasGA2_TC010973 [Tribolium castaneum]	2,98E-64	20,8872	2,48E-05
Snon_454_illumina_c11204		0	19,2443	6,95E-05

Supplementary information S6: Distribution of *Sesamia nonagrioides* contigs annotated at GO level 2 in the female adult ovipositors of the French (A) and the Kenyan (B) populations.

Female ovipositor

A. France

B. Kenya



Chapitre 4 : Discussion générale et perspectives

Dans un contexte général d'une étude de l'effet de l'anthropisation sur les populations d'insectes, ce travail s'est focalisé sur la comparaison de populations naturelles de *Sesamia nonagrioides* ; une, principalement rencontrée sur plantes sauvages au Kenya et une autre trouvée en France sur plantes cultivées, ces dernières résultant de l'action de l'homme et représentant le milieu anthropisé. Nous avons limité notre comparaison à l'expression des gènes, en nous focalisant plus particulièrement sur les gènes chimiosensoriels. En effet ces gènes, impliqués dans les sens chimiques de l'insecte, sont des acteurs importants du choix de la plante hôte. L'olfaction guide l'insecte vers la plante alors que la gustation conditionne plutôt la prise alimentaire. L'hypothèse est donc que ces gènes peuvent participer à l'adaptation à une nouvelle plante hôte ou bien être modifiés suite à cette adaptation. Cette hypothèse est étayée par différents exemples de la bibliographie, comme illustré dans le premier chapitre (§IV). Les modifications peuvent porter sur la séquence des gènes (apparition de mutations), sur leur nombre ou sur leur taux d'expression. Sans génome disponible, et dans une première approche de l'étude de l'anthropisation, nous avons favorisé l'étude de l'expression différentielle du transcriptome entre les deux populations, par une approche RNAseq. Au sortir de ces trois ans de recherches, l'étude des gènes chimiosensoriels de deux populations de *S. nonagrioides* et les comparaisons transcriptomiques que j'ai menées nous ont apportées un certain nombre de résultats, dont certains intéressants voire surprenants, qui méritent d'être discutés car ils soulèvent de nouvelles questions pour les années à venir.

I. Un lépidoptère : modèle d'étude adapté ?

Notre modèle, la sésamie du maïs *S. nonagrioides*, est un papillon nocturne. Il est appréhendé dans ce travail à la fois au stade adulte et larvaire. Les insectes, en général, utilisent leur système chimiosensoriel afin d'identifier chimiquement leur environnement et donc de localiser et reconnaître un partenaire sexuel ou la plante hôte qui servira de site de ponte et de nourriture pour les larves. Chez les lépidoptères nocturnes, comme la sésamie, ces sens chimiques sont particulièrement importants car les autres sens sont moins développés. Ainsi un modèle nocturne est particulièrement bien adapté à l'étude de la possible contribution des sens chimiques à l'adaptation, et adultes et chenilles sont très

complémentaires dans le choix de la plante hôte : si la femelle adulte gravide choisit la plante sur laquelle elle va pondre ses œufs, la chenille décide ou non de la manger ou de se déplacer vers une autre source de nourriture. En effet il a été montré que les larves avaient la capacité de choisir leur hôte en utilisant là encore leur système olfactif (Castrejon et al., 2006 ; Piesik et al., 2009). Par ailleurs, la perturbation de ces sens et notamment des capacités olfactives de ces insectes est une solution intéressante dans le cadre d'une agriculture raisonnée impliquant la réduction de produits phytosanitaires. C'est dans cette optique que sont réalisés de nombreux travaux sur l'olfaction des lépidoptères (en majorité phytophages), et surtout sur le stade adulte. En effet, le stade adulte est chronologiquement le premier stade responsable de ravage des cultures (la femelle cherche la plante sur laquelle celle-ci déposera ses oeufs). C'est également à ce stade que la dispersion est facilitée puisque l'adulte est plus mobile que la larve. Cependant, le stade larvaire est le véritable stade ravageur. En effet, la larve est le seul stade qui se nourrit. Ainsi, une meilleure compréhension des mécanismes qui sous-tendent ces sens chimiques, à la fois chez les adultes et les chenilles, pourra permettre de développer de nouvelles approches en protection des cultures basées sur la perturbation de leur communication chimique. Par exemple, la mise en évidence de gènes chimiosensoriels particulièrement importants dans l'adaptation à un nouvel hôte pourra constituer de nouvelles cibles potentielles pour interférer avec la réponse de l'insecte.

Plus précisément, quel est l'intérêt d'avoir utilisé l'espèce *S. nonagrioides* ? Tout d'abord, cette espèce est facile à élever et multiplier en laboratoire. Mais à part cet aspect pratique (non des moindres), le principal intérêt a été que nous avons à notre disposition une population inféodée au milieu sauvage (sur *Typha* au Kenya) et une autre au milieu cultivé (sur maïs en France). Moyal et al. (2011) ont récemment montré au travers d'analyses moléculaires que les populations de *S. nonagrioides* européennes sont issues de celles d'Afrique de l'Est. Ces observations nous offraient donc l'opportunité unique d'appréhender l'adaptation sur un modèle adapté à l'étude de la « chimiosensorialité ».

Mais ce modèle n'a pas que des avantages. En effet le génome n'est pas séquencé, comme c'est le cas de la majorité des lépidoptères. Aujourd'hui, seuls 4 génomes de Lépidoptères sont disponibles : chez le vers à soie *B. mori* (Mita et al., 2004; Xia et al., 2004), le monarque *Danaus plexippus*, le papillon *Heliconius melpomene* (The Heliconius genome consortium 2012) et, tout récemment, *Plutella xylostella* (2013). Ceci impliquait, dans une première

étape, d'obtenir des données de séquences sur cette espèce, où seule une poignée de gènes olfactifs était identifiée. D'autres modèles de papillons de nuit auraient pu paraître mieux adaptés, telle la noctuelle du coton *Spodoptera littoralis*, développée au laboratoire depuis une dizaine d'année et sur laquelle un transcriptome de référence était déjà disponible et à l'analyse duquel j'ai participé (Jacquin-Joly et al., 2012; Legeai et al., 2011; Poivet et al., 2013). Près de 130 gènes chimiosensoriels ont été identifiés chez *S. littoralis* et l'ensemble des récepteurs olfactifs est en cours de caractérisation fonctionnelle dans le cadre de la thèse d'Arthur de Fouchier démarrée en 2012. Cependant, nous n'avions pas connaissance de populations inféodées aux plantes sauvages pour comparaison à des populations sur plantes cultivées.

II. Pourquoi un transcriptome de référence et comment a t'il été obtenu ?

Nous l'avons vu au chapitre 1 (§ III.1), le problème majeur des récepteurs chimiosensoriels des insectes est la faible conservation des séquences entre espèces. Lorsqu'il n'y a aucun génome disponible, cela empêche l'identification de ces récepteurs par les techniques plus classiques comme le clonage par homologie. Sur le modèle *S. littoralis*, le laboratoire a pu démontrer l'efficacité d'approches transcriptomiques pour identifier ces gènes divergents. Si les premières approches EST (Expressed Sequenced Tag) menées sur les antennes d'insectes ne se sont pas révélées fructueuses pour identifier des récepteurs olfactifs (*Manduca sexta* : 300 EST séquencées en 1999, aucun OR identifié ; Roberston et al. [1999] ; *Epiphyas postvittana* : >5000 EST séquencées en 2008, 3 OR identifiés ; Jordan et al. [2008]), le laboratoire a combiné le séquençage à grande échelle (40 000 EST séquencées en Sanger à l'époque) avec la normalisation de la banque d'ADNc, ce qui a permis d'enrichir la banque en gènes peu exprimés et de favoriser l'identification de gènes rares. Depuis, le développement des NGS permet de généraliser ce type d'approche, et ce sont donc ces techniques que nous avons choisies pour notre étude. Nous avons vu, au cours de ces trois dernières années, le prix du séquençage diminuer fortement, ce qui fait que le choix d'une certaine stratégie à l'instant t peut ne plus se révéler pertinente à l'instant t+1. Ainsi demain, pour la même somme que celle investie dans ce projet, le génome pourrait être séquencé, offrant

l'inventaire complet ou presque des gènes de l'espèce ainsi que l'accès aux séquences intergéniques, très importantes dans la régulation de l'expression des gènes. Mais au démarrage de ce projet, nous devions constituer une banque de séquences de référence pour pouvoir réaliser notre étude, à savoir 1) identifier des gènes chimiosensoriels chez cette espèce comme gènes candidats à l'adaptation ; 2) comparer l'expression du transcriptome établi entre les deux populations. L'approche transcriptomique, qui avait fait ses preuves, a donc été choisie. L'avantage de travailler sur les transcrits est que, l'épissage ayant eu lieu, on s'affranchit de l'étape de la prédiction de gènes (détermination des frontières intron/exon), souvent aléatoire, mais indispensable lorsque l'on travaille sur des séquences génomiques. Pour établir le transcriptome de *S. nonagrioides*, nous avons décidé de séquencer l'ARN des organes qui nous intéressaient, principalement les organes chimiosensoriels, en incluant également d'autres organes, comme les cerveaux, pour les besoins des autres tâches du projet ANR. Les ARN extraits de ces différents tissus, prélevés à la fois chez les adultes et les chenilles pour les raisons évoquées en §1 de ce chapitre, ont été séquencés par la technique 454 et les séquences obtenues ont été assemblées, nous fournissant une première référence pour rechercher les gènes chimiosensoriels de *S. nonagrioides*. Les premières analyses ont été très décevantes. En effet, fort de l'expérience des séquençages précédents au laboratoire sur *S. littoralis*, nous nous attendions à trouver les séquences de nombreux gènes d'intérêts et de bonne qualité. Le séquençage en lui-même n'a pas été très performant, les tailles de lectures étaient plus courtes que ce qui étaient normalement attendues (230 pb au lieu de 400), la société GATC, chargée de ce séquençage n'a pas été en mesure de nous fournir d'explications. La qualité des ARN n'était vraisemblablement pas en cause (contrôle qualité OK, quantité suffisante) et un séquençage d'essai avait été réalisé auparavant par GATC sans aucun problème. De plus, les premières recherches de gènes chimiosensoriels sur ce premier transcriptome ne nous ont pas permis de trouver beaucoup de candidats. En effet, une petite dizaine d'OR potentiels ont été détectés, pour la majorité avec des séquences très incomplètes (le seul complet alors était SnonORco), aucun GR et relativement peu de protéines de liaison avec également des séquences très incomplètes. Une explication à ces observations serait qu'en ajoutant d'autres tissus autres que chimiosensoriels, nous aurions « dilué » les ARN des récepteurs, gènes très peu exprimés. De même, le mélange de tissus adultes et chenilles peut être aussi source de dilution : si les antennes des adultes sont très riches en neurones olfactifs (elles

portent plusieurs dizaines de milliers de sensilles abritant chacune 2 à 3 neurones), les organes chimiosensoriels des chenilles sont très pauvres en neurones (antennes et palpes de chenilles abritent ensemble moins de 80 neurones (Dethier and Schoonhoven, 1969). De plus, les organes des chenilles sont de très petite taille, ce qui entraîne lors de la dissection la contamination par d'autres tissus et de l'hémolymphe. Les études publiées ayant permis d'identifier un grand nombre de récepteurs ont été réalisées en ne séquençant que du tissu chimiosensoriel adulte (Legeai et al., 2011 ; Große-Wilde et al., 2011 ; Jacquin-Joly et al., 2012 ; Bengtsson et al., 2012), confortant ces explications. Dans le même sens, le séquençage du transcriptome chimiosensoriel des chenilles de *S. littoralis* n'a apporté que très peu d'information sur les gènes chimiosensoriels (Poivet et al., 2013). Ce manque de données dans le transcriptome 454 de *S. nonagrioides* a toutefois pu être amélioré grâce aux données du second séquençage, effectué par la technique Illumina. Initialement, ce séquençage était dédié à l'analyse comparative des taux d'expression de gènes dans chaque population, les lectures obtenues pour chaque organe indépendant et pour chaque population devant être initialement alignées sur la référence 454 et comptées. Cependant vu l'immense quantité de données transcriptomiques générées par le séquençage de 10 banques Illumina (19 Gbases de données), il nous est apparu opportun de les intégrer à notre transcriptome de référence. En effet, l'inconvénient des lectures de séquençage Illumina est la courte taille de celles-ci, rendant l'assemblage extrêmement difficile. Mais comme nous disposions des lectures de 454, il nous a été possible d'utiliser ces dernières comme un squelette, d'y ajouter les lectures d'Illumina et bénéficier ainsi d'un transcriptome beaucoup plus complet (51 999 contigs, N50 = 1741 pb). En effet, nous avons pu alors identifier de plus nombreux gènes chimiosensoriels et de bien meilleure qualité. Cependant, malgré nos améliorations, nous n'avons pas encore identifié les répertoires complets de ces familles de gènes. Par exemple, en comparaison au nombre de gènes codant potentiellement pour des récepteurs olfactifs identifiés par approches transcriptomiques (47 chez *S. littoralis* [Poivet et al., 2013], *M. sexta* [Große-Wilde et al., 2011], et *Helicoverpa armigera* [Liu et al., 2012], 43 chez *C. pomonella* [Bengtsson et al., 2012]), nous sommes bien en dessous. Outre l'augmentation de la couverture de séquençage, de la qualité de son assemblage et de la possible focalisation sur les antennes adultes riches en neurones sensoriels, la stratégie complémentaire serait d'obtenir le génome de *S. nonagrioides*, ce que nous ne pouvions pas faire par manque de temps et

d'argent. Cela permettrait d'identifier tous les gènes chimiosensoriels, dont l'annotation serait par ailleurs facilitée grâce aux données transcriptomiques déjà obtenues lors de cette étude. Récemment plusieurs projets au niveau international ont été lancés afin de réaliser des séquençages massifs d'insectes ou d'arthropodes. C'est le cas par exemple de l'initiative i5K (Robinson et al., 2011), qui a pour but de séquencer d'ici 5 ans 5000 génomes d'arthropodes. La noctuelle *S. nonagrioides* a été récemment inscrite dans ce programme. Entre autres perspectives, il serait important d'apporter des données biologiques pour supporter l'annotation fonctionnelle des gènes comme gènes chimiosensoriels. En effet, l'annotation par comparaison et similitude *in silico* n'est pas suffisante pour dénomer un gène comme codant pour une OBP ou un OR. La première étape serait ainsi d'étudier la spécificité tissulaire des gènes chimiosensoriels. En effet, comme vue en introduction bibliographique (§ III.1), les gènes chimiosensoriels tels que les OBP ou les OR sont enrichis voir spécifiques des tissus chimiosensoriels. Une étude par RT-PCR pourrait être ainsi être menée sur différents tissus, comme celle initiée dans le chapitre II (mais dans ce chapitre limitée là à la comparaison entre mâle et femelle), afin de déterminer lesquels, parmi les gènes chimiosensoriels potentiels annotés, sont effectivement spécifiques des tissus chimiosensoriels. De façon plus approfondie, une étude en qPCR pourrait permettre de mesurer l'enrichissement des tissus chimiosensoriels en gènes annotés. Au final, l'étude fonctionnelle de ces candidats sera seule garante de leur correcte annotation.

III. Methodologie : RNAseq versus μ Array

Les premières techniques de comparaison d'expression de gènes à grande échelle sont les puces à ADN. Mises au point dans les années 90, elles restent la référence pour ce type d'étude et bénéficient de plusieurs années d'expertise, ce qui implique que les principaux biais sont connus et que de nombreux outils fiables existent pour analyser les résultats. De plus, la technique de fabrication étant parfaitement maîtrisée, les coûts des puces à ADN sont très réduits.

Cependant, la technique des puces à ADN implique d'avoir une bonne connaissance des gènes de l'espèce. Si le génome est séquencé, il est possible d'utiliser des puces qui représentent le génome entier. En revanche, si seules des données transcriptomiques sont

disponibles, il est possible de créer des puces d'ADNc ou des puces « oligos ». Par ces approches, des fragments de ces gènes, les sondes, sont fixés sur la puce et s'hybrident avec l'ADN des échantillons portant un marqueur fluorescent. Pour un gène donné, plus les ADN sont nombreux, plus l'intensité de la fluorescence au niveau de l'hybridation est importante, et ceci jusqu'à saturation. Ainsi la mesure de fluorescence représente le taux d'expression du gène.

Dans notre étude, nous avons établi un transcriptome de référence pour l'espèce *S. nonagrioides*, qui aurait pu servir à la construction de puces à façon dédiées au projet et qui auraient pu être hybridées avec des ARNs extraits des deux populations pour comparaison. Cependant, comme vu précédemment, ce transcriptome ne reflète pas l'ensemble des gènes chimiosensoriels (peu de gènes chimiosensoriels sont connus chez *S. nonagrioides* ce qui limite considérablement le choix des sondes), et n'est vraisemblablement pas non plus représentatif de l'ensemble des gènes exprimés chez cette espèce. Ainsi, le choix d'une stratégie puce n'aurait permis d'étudier que quelques gènes et aurait apporté des résultats biaisés. Par conséquent le choix des NGS, en pleine explosion lorsque ce projet a débuté, se justifiait pleinement, permettant une approche globale sans aucun a priori sur le choix des gènes à étudier. Par ailleurs, une limitation des puces est la saturation du signal fluorescent qui reflète le taux d'expression du gène d'intérêt. Ainsi, la quantification de l'expression des gènes n'est pas totalement fiable pour les gènes très exprimés. Dans l'approche RNAseq, il n'y a pas de saturation du signal car la quantification ne passe pas par une évaluation de la fluorescence mais par un alignement des lectures sur une référence suivi d'un vrai comptage du nombre de lectures qui s'alignent sur le gène d'intérêt, sans limitation (Oshlack et al., 2010). Les principaux inconvénients du RNAseq, en revanche, sont d'une part la quantité de matériel ARN nécessaire à la construction des banques et d'autre part le manque de recul car la technique est très récente. Ainsi, la quantité de matériel biologique nécessaire au séquençage Illumina est bien plus élevée que celle nécessaire à l'approche puce, bien que les progrès rapides permettent de voir les quantités demandées diminuer d'année en année : au démarrage de ce projet, la société GATC nous demandait 10 µg d'ARN par échantillon pour construire une banque. Cela nous a notamment empêché de faire plusieurs répétitions biologiques, en particulier pour les tissus adultes, car le matériel biologique sur lequel nous avons travaillé est un matériel rare issu de populations naturelles. Aujourd'hui, il est possible de partir de 2 µg, voire de 0.5 µg pour certains prestataires. Pour comparaison, une

hybridation sur puce nécessite 500 ng d'ARN. Si le nombre de répétitions biologiques est important et peut être un frein à l'analyse statistique des résultats RNAseq, il a cependant été admis par la communauté scientifique que le nombre de répétitions techniques du séquençage Illumina ne modifiait pas la qualité des résultats (Marioni et al., 2008). Le deuxième désavantage de l'approche RNAseq est le manque d'outils validés prêts à l'emploi pour l'analyse des résultats, contrairement à l'approche puce. En particulier, au début de ce travail, différentes pistes pour la normalisation des données et l'analyse des résultats étaient explorées par la communauté scientifique du domaine, sans véritable consensus. La présence de Stéphane Le Crom, responsable de la bioinformatique sur la plate-forme transcriptome de l'ENS, dans le comité de suivi de thèse a été un atout majeur pour nous conseiller. De même la collaboration avec la plateforme GenOuest a été déterminante pour cette approche, puisque nous avons pu bénéficier du soutien de personnes référentes en bioinformatique qui, en particulier, participaient aux forums de discussion relatifs à l'analyse des données RNAseq. La méthode d'analyse choisie, la suite DESeq, était une bonne option car elle est aujourd'hui utilisée dans de nombreuses publications.

En principe, l'approche RNAseq permet, outre la quantification d'expression par comptage des lectures alignées, de révéler du polymorphisme (SNP, single nucleotide polymorphism). Cela aurait été très pertinent dans notre comparaison des populations, car ces SNP pourraient être impliqués dans l'adaptation. Cependant, une analyse rigoureuse des SNP nécessite une grande couverture de séquençage, afin de faire la différence entre un SNP véritable et des erreurs de séquençage. Dans notre étude, la couverture du transcriptome par les lectures RNAseq s'est révélée insuffisante pour mener cette analyse (certains gènes chimiosensoriels ne sont représentés que par quelques lectures). Ainsi, les données RNAseq n'ont été exploitées que pour la comparaison des taux d'expression des gènes dans les deux populations.

A la vue de ces constatations et de l'évolution très rapide des NGS (prix, quantité de données générée, matériel de départ nécessaire...), une perspective évidente serait de poursuivre ce travail par le séquençage plus profond de nouveaux échantillons. L'analyse statistique en serait facilitée, les résultats plus robustes, et l'analyse des SNP ainsi que des épissages alternatifs envisageable.

IV. Analyse comparative de l'expression des gènes entre les deux populations par RNAseq

L'analyse bioinformatique des données RNAseq a permis de mettre en évidence de nettes différences d'expression de gènes entre les deux populations. Cependant, afin de valider cette approche, il serait nécessaire de confirmer les variations d'expression d'un certain nombre de gènes choisis par une approche de biologie, comme la PCR quantitative en temps réelle (qPCR). En raison des différents retards accumulés pour les séquençages et les assemblages notamment, nous n'avons pu que procéder à une étude préliminaire de confirmation sur un lot de 3 gènes, mais les données obtenues en qPCR confirment les résultats de RNAseq, et apportent des éléments de validation de la méthode, ce qui est tout à fait encourageant. Ces données n'étant pas encore incluses dans les deux manuscrits, elles sont présentées en figure 23.

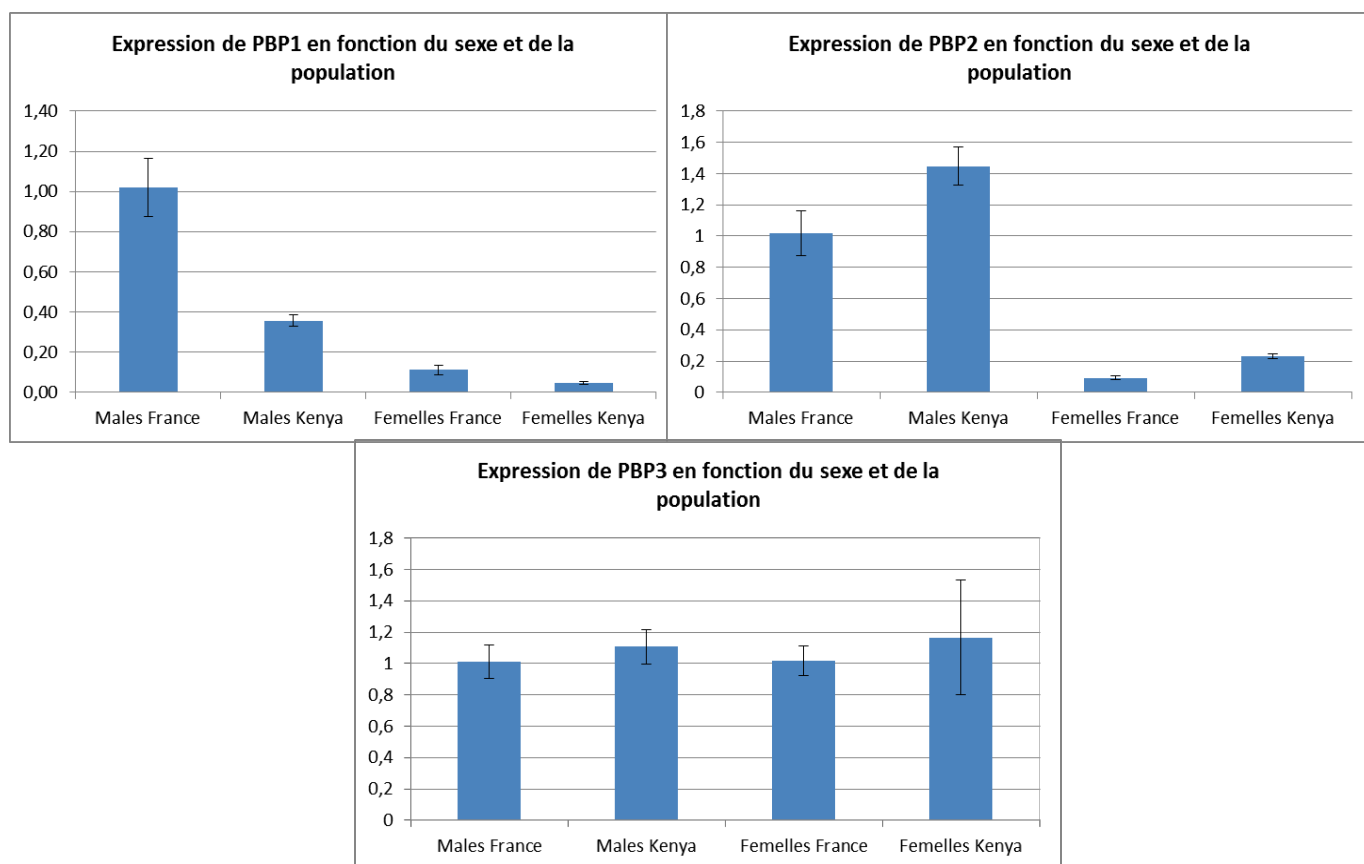


Figure 23. Comparaison des taux d'expression des 3 PBP chez les individus mâles et femelles de *S. nonagrioides* selon la population par qRT-PCR (Collaboration Claire CapdeVielle-Dulac, IRD/CNRS, Gif-sur-Yvette).

Ces gènes ont été choisis parmi les gènes chimiosensoriels et ont été les 3 PBP de *S. nonagrioides*. Ces gènes, impliqués dans la reconnaissance phéromonale, ont été choisis car leur variation nous est apparue surprenante et donc à vérifier. En effet, on ne s'attendait pas à trouver une différence dans leur taux d'expression entre les deux populations, mais plutôt à voir des différences dans les gènes liés à la détection des plantes hôtes (voir plus loin la discussion sur l'expression différentielle des PBP entre les deux populations).

La comparaison des niveaux d'expression des gènes entre les deux populations a révélé plusieurs choses. Tout d'abord, nous nous sommes rendus compte de la présence de transcrits spécifiques des populations. En effet, certains gènes sont apparemment exprimés dans une population mais pas dans l'autre. Plusieurs hypothèses sont alors possibles : ces gènes pourraient ne pas être exprimés effectivement dans une des deux populations, ou

alors, cela pourrait être les conséquences d'une évolution du patrimoine génétique des insectes entre les deux populations. En effet, bien que les deux populations présentent peu de divergences génétiques, elles se seraient séparées il y a 8000 ans (Moyal et al., 2011) et certains gènes présents et exprimés dans une population pourraient avoir subi une ou plusieurs mutations qui résulteraient alors en la création de pseudogènes chez l'autre population. Ou à l'inverse, un gène commun aux deux populations pourrait avoir été dupliqué dans une population, aboutissant à la naissance d'un nouveau gène spécifique de cette population avec une fonction également spécifique. Ceci serait alors des indicateurs de phénomènes de spéciation en cours. Cependant pour pouvoir étudier plus en profondeur ces questions, les données génomiques sur les deux populations de *S. nonagrioides* sont manquantes et nous ne pouvons pour le moment pas tirer de conclusions quant à ces données de RNAseq, le transcriptome de référence ayant été séquencé sur un mélange d'ARN des deux populations.

Un autre fait intéressant est que le nombre de gènes exprimés différemment est plus important dans les tissus larvaires que dans les tissus adultes. Ceci peut s'expliquer par un biais statistique : alors que nous avons 3 répétitions biologiques pour les tissus chenilles, un seul réplicat a été séquencé pour les deux tissus adultes. Avec un seul réplicat, la méthode d'analyse employée considère dans un premier temps les deux populations comme deux réplicats biologiques de la même condition, ce qui permet de déterminer la divergence entre réplicats pour l'analyse statistique. Ainsi, la dispersion se retrouve plus importante que lorsqu'elle est calculée sur de vrais réplicats de la même condition (moins de divergence entre les échantillons), par conséquent moins de gènes se retrouveront varier au-delà de la dispersion calculée lorsqu'il n'y a qu'un réplicat. Une autre explication viendrait des différences écologiques entre les stades adultes et chenilles. En effet, la larve se nourrit pendant environ 4 semaines. Cela signifie que pendant ces 4 semaines, tous les mécanismes liés à la recherche de nourriture ainsi qu'à sa consommation sont utilisés, permettant à la larve d'accumuler de l'énergie. L'adulte quant à lui n'a pour quasi-seul objectif que la reproduction et cela pendant une période de vie assez courte, de l'ordre de 4-5 jours. L'adulte de cette espèce possède par ailleurs un proboscis atrophié, ce qui confirme que celui-ci ne se nourrit pas ou très peu. Cependant, il convient de souligner le fait que lors des dissections de palpes et d'antennes de chenilles, les tissus prélevés, du fait de la petite taille des organes, contiennent également d'autres tissus non-chimiosensoriels comme les

muscles, de l'hémolymphe et divers autres tissus présents autour de l'orifice buccal (cf § II de ce chapitre). Ceci pourrait également expliquer ces différences de nombres de gènes différentiellement exprimés. Il est intéressant de noter que ce nombre est également plus élevé chez les larves issues de la population française que chez les larves de la population kenyane. Cela montre une plus forte activité transcriptionnelle chez les larves de France que chez les larves du Kenya. Ces différences ne se retrouvent par contre pas chez les adultes. Lorsque l'on regarde de plus près les familles de gènes différentiellement exprimés entre les populations, nous remarquons une prépondérance de protéines virales et de cytochromes P450. La présence de ces protéines virales dans nos résultats peuvent s'expliquer par la différence des pathogènes rencontrés par *S. nonagrioides* en France et au Kenya. Les cytochromes P450 quant à eux sont impliqués dans la détoxification et dans la réponse aux substances xénobiotiques (toxines ou autres molécules chimiques présentes dans l'environnement de l'insecte). La différence majeure entre les plantes-hôtes de nos deux populations est que le maïs est une plante cultivée. Cela implique la présence éventuelle de molécules chimiques issues de la culture du maïs, telles que les pesticides, que la larve doit alors métaboliser. Ceci expliquerait pourquoi les P450 sont différentiellement exprimés chez les larves. De plus, les plantes possèdent des mécanismes de défenses contre les attaques de phytophages résultant en la production de métabolites secondaires (ROS, etc...) destinés à repousser l'agresseur. Les cytochromes P450 peuvent également être impliqués dans la réponse à ces composés secondaires et la différence de plante-hôte impliquant une probable différence de ces métabolites, ceci expliquerait également les différences de taux d'expression de cytochrome P450 entre les deux populations. Les cytochromes P450 ont également été décrits comme ODE. Une hypothèse serait que leurs différences de taux d'expression pourraient refléter une différence dans les signaux chimiques émis par les différentes plantes et que l'insecte doit détecter pour les identifier. Outre ces ODE potentielles, nous avons également mis en évidence des gènes chimiosensoriels différentiellement exprimés. La majorité de ces gènes font partie des familles de protéines de liaison, à savoir les OBP et CSP, ainsi que d'autres familles d'ODE potentielles. Il est à noter que seuls des gènes impliqués dans les événements péri-récepteurs ont montrés une variabilité et aucun récepteur membranaire n'a été montré comme différentiellement exprimé. Le nombre d'OR identifiés étant limité, il est possible que l'on soit passé à côté de récepteurs variants non encore identifiés. Cependant, d'autres études menées sur la

plasticité du système olfactif périphérique des insectes ont été menées au laboratoire sur *S. littoralis* (effet du rythme circadien (Merlin et al., 2007a), effet du jeûne chez les larves Poivet, doctorat), qui ont toutes mis en évidence des variations d'expression dans les gènes péri-récepteurs et aucune au niveau des OR. Ainsi, les résultats obtenus dans le cadre de cette étude sont en accord avec ces autres études.

Il est à noter que l'approche RNAseq se limite à l'étude des transcrits. En perspective, une approche protéomique serait pertinente pour approfondir nos questions. En effet, à des différences d'expression correspondent des différences de quantité de protéines. L'approche protéomique a été développée sur les antennes de *S. nonagrioides* par le laboratoire CSIC et s'est révélée pertinente pour identifier les spots protéiques correspondant aux PBP (Acin et al., 2009). Une stratégie similaire pourrait être menée sur les extraits protéiques d'organes chimiosensoriels des deux populations de *S. nonagrioides*. Si elles sont confirmées au niveau protéique, ces variations dans les taux d'expression des OBP et ODE pourraient être liées à des différences de sensibilité olfactive entre les deux populations (différente accessibilité aux récepteurs, vitesse de terminaison du signal différente), différences qui ont pu participer à l'adaptation à un nouvel hôte ou qui pourraient en résulter. Une perspective serait de vérifier cela par électrophysiologie, en particulier l'électroantennographie (EAG). Cette technique permet de mesurer l'activité électrique de l'ensemble des neurones d'une antenne lors d'une stimulation odorante. Cette activité est quantifiable et sa valeur est proportionnelle à la dose de stimulation, jusqu'à atteindre un plateau: on peut effectuer des études des réponses en fonction de la dose d'un stimulus donné, et comparer entre deux populations le seuil de réponse (concentration minimale requise pour observer une réponse significativement supérieure au control), qui sera le reflet de la sensibilité de l'antenne. Ainsi, il serait pertinent de tester des effluves de maïs et des effluves de Typhas, et de comparer les seuils de réponses entre les deux populations. Si des différences physiologiques sont observées, une étude du comportement pourrait ensuite être envisagée. D'un point de vue moléculaire, nous avons apporté des hypothèses pour expliquer la contribution des sens chimiques à l'adaptation d'un insecte à des phénomènes liés à l'anthropisation. Mais, si des gènes candidats sont mis en évidence, de nouvelles questions sont soulevées, qui nécessitent une connaissance approfondie de ces acteurs moléculaires. Ainsi, il serait nécessaire de déterminer la fonction exacte des gènes annotés comme chimiosensoriels et dont l'expression varie entre les deux populations.

Quels est leur rôle dans la détection des signaux olfactifs de la plante hôte ? Pour les OBP, cette question pourrait être: quels sont les ligands qu'elles lient avec le plus d'affinité ? Pour les ODE, cette question pourrait être: quelle sont les molécules odorantes qu'elles dégradent de façon préférentielle? De telles études sont possibles avec les outils développés au laboratoire. Ainsi, pour les OBP, des tests de liaison sont possibles avec des protéines recombinantes et des ligands marqués par radioactivité, ce qui permet de suivre et de quantifier leur liaison avec les OBP. Une autre technique est la mesure du déplacement de fluorescence. Dans cette approche, un ligand fluorescent ubiquiste est lié à l'OBP, puis les ligands sont testés pour leur capacité à entrer en compétition avec cette liaison et à ainsi déplacer la fluorescence. Pour les ODE, le laboratoire a développé la production hétérologue d'enzymes recombinantes en culture de cellule, enzymes qui peuvent être ensuite mises en présence de ligands odorants potentiels, et dont les produits de dégradation éventuels sont détectés et quantifiés en chromatographie en phase gazeuse.

L'un des résultats intéressants de l'approche RNAseq a déjà fait l'objet d'un début d'étude. Il s'agit de la variation des taux d'expression des PBP observée entre les deux populations de *S. nonagrioides* et déjà évoquée plus haut. En effet, 2 PBP parmi les 3 de l'espèce sont différenciellement exprimées entre les deux populations. Cette constatation nous a incités à nous intéresser de plus près au système phéromonale de la sésamie. En partant de l'hypothèse que la variation des taux d'expression des PBP pouvait être liée à une variation de la composition de la phéromone, nous avons initié l'étude de la composition des phéromones des 2 populations grâce à des techniques de GC-MS (chromatographie en phase gazeuse couplée à de la spectrométrie de masse) et à la collaboration de Brigitte Frérot et Ené Leppik (UMR PISC). Cette étude consiste à prélever la phéromone des glandes par la méthode SPME (Solid Phase MicroExtraction) (Frérot et al., 1997b) produite par des femelles en appel. Le prélèvement se fait par contact avec la glande, à l'aide d'une fibre recouverte d'une phase possédant une affinité avec les composants de la phéromone. La phéromone est adsorbée par la phase recouvrant les fibres SPME et désorbée lors de la chromatographie, les composés étant alors séparés les uns des autres. Les composés chimiques sont ensuite analysés grâce à un spectromètre de masse. Ceci permet d'identifier ces composés et de les quantifier. Les résultats préliminaires ont fait apparaître des différences non pas au niveau de la nature des molécules chimiques de la phéromone mais au niveau des ratios de ses différents composés.

Ces premiers résultats restent encore à confirmer statistiquement par des répétitions plus nombreuses mais constituent déjà une hypothèse de corrélation entre des variations d'expression des PBP chez *S. nonagrioides* et une variation de la composition de sa phéromone. La variation dans le mélange phéromonal peut être une première étape vers la spéciation, puisque des différences phéromonales constituent une barrière reproductrice.

V. Effet plante, effet géographique ou les deux ?

Notre travail a révélé des différences dans l'expression des gènes entre les deux populations. Cependant, il est encore impossible d'affirmer que ces variations sont dues à la différence de plantes-hôtes sur lesquelles ont été ramassées les populations. En effet les populations étudiées présentent une séparation importante d'un point de vue géographique. Les climats ainsi que les photopériodes sont extrêmement différents entre la région de Toulouse et l'est du Kenya et des différences liées à cette séparation géographique pourraient éventuellement être à l'origine de différences de taux d'expression de gènes que l'on observe. Ces paramètres sont à prendre en compte dans l'interprétation de nos résultats. Très récemment, une population de *S. nonagrioides* a pu être collectée sur plantes sauvages en France. Une perspective serait donc de réaliser une étude similaire à celle menée pendant cette thèse sur deux populations françaises trouvées dans la même région sur plante sauvage et maïs cultivé, ce qui permettrait de s'affranchir alors de ce problème géographique. De même il pourrait être judicieux de réaliser une étude sur les populations de *S. nonagrioides* de l'ouest du Kenya. L'identification de gènes variants et communs à ces différentes études en ferait des gènes candidats de choix pour leur contribution à l'adaptation aux plantes cultivées, une conséquence de l'anthropisation.

Conclusion Générale

Ce travail de thèse a contribué à apporter des éléments nouveaux pour la compréhension des processus moléculaires impliqués dans l'adaptation des insectes à leur environnement et plus spécifiquement ici, pour le cas de *S. nonagrioides* à sa plante hôte.

Nous avons apporté, grâce aux séquençages de nombreuses banques de transcrits balayant les stades larvaire et adulte et différents organes, un transcriptome de référence pour cette espèce pour laquelle peu de données de séquences étaient disponibles. Ces données sont maintenant disponibles pour la communauté scientifique. Notamment, nous avons initié l'établissement des répertoires de différentes familles de gènes impliqués dans la chimioréception. Notre transcriptome constitue donc une première base conséquente pour la recherche de ces gènes mais une base qui reste à améliorer pour augmenter sa couverture. Cependant cette base a été suffisante pour mettre en évidence des signes de modifications génétiques du système chimiosensoriel qui pourraient être en lien avec une adaptation de *S. nonagrioides* à un nouvel environnement anthropisé.. Un certain nombre de gènes candidats ont été mis en lumière, ouvrant de nombreuses pistes d'étude (comme la possible corrélation entre la composition de la phéromone et l'expression des PBP), la principale étant l'étude fonctionnelle de ces candidats

Outre ces possibles bases génétiques, un phénomène qui pourrait contribuer à l'adaptation à l'hôte est la théorie d'Hopkins (Hopkins, 1917). Cette théorie repose sur le fait que l'expérience alimentaire des larves est transmise à l'adulte à travers la métamorphose et influence les préférences d'habitats et d'oviposition. Le sens de la théorie d'Hopkins a évolué dans le temps et la notion de la fidélité à l'hôte est maintenant communément utilisée (Barron, 2001). En dépit de beaucoup d'attention, il y a encore très peu de preuves convaincantes de l'influence du conditionnement préimaginal sur le choix de l'hôte chez les insectes. Il apparaît de plus en plus évident que la variation génétique dans le comportement et le conditionnement pendant la durée de vie d'un insecte peut contribuer à une préférence d'oviposition pour l'hôte sur lequel un insecte s'est développé.

Une transmission de la « mémoire » des larves aux adultes a été plus récemment montrée chez *Manduca sexta* (Lepidoptera : Sphingidae) par Blackiston et al. (2008). Cette transmission permettrait d'expliquer la fidélité à l'hôte selon certaines espèces. Il existe généralement un lien fort entre la préférence d'oviposition des femelles et l'adéquation de la plante au développement des larves. Quoiqu'il en soit ces mécanismes de transmission, de sélection et d'acceptation de la plante hôte entre les larves et les adultes ont probablement

une origine épigénétique par apprentissage natal, comme cela a été montré chez différents insectes (Davis and Stamps, 2004), ou une origine génétique par conservation structurelle et fonctionnelle du système sensoriel. Dans notre étude, grâce à l'investigation des chenilles et des adultes, nous avons montré que les répertoires de gènes sensoriels sont plus ou moins chevauchants entre les stades (chapitre 2). Ainsi, au moins 6 ORs, 2 IRS, et 11 protéines de liaison sont exprimés à la fois chez les chenilles et les adultes, qui pourraient être impliqués dans la transmission des préférences. Certains sont également exprimés dans l'ovipositeur des femelles. Ainsi, dans un contexte plus vaste que celui de notre étude, ils apparaissent comme des gènes candidats pour tester la composante génétique de la théorie d'Hopkins.

ANNEXE 1

Composition du milieu d'élevage de *Sesamia nonagrioides* modifié et issu de Poitout and Bue (1970) :

Quantités en g pour 10 kgs de milieu

Eau	80%
-----	-----

Substrat

Agar	125
Farine de maïs	708
Touteau de soja	708
Germe de blé	354
Levure de bière	266

Conservateurs et anti-microbiens

Acide benzoïque	28
Acide ascorbique	50
Tetracycline	1
Ampicilline	0,75
Methyl Paraben	12
Formaldéhyde	3,75

Vitamines

Mélange vitaminé	75
------------------	----

Références bibliographiques

<http://www-pherolist.slu.se/pherolist.php>.

- Abdel-Latif, M. (2007). A Family of Chemoreceptors in *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae: Coleoptera). PLoS ONE 2, e1319.
- Abuin, L., Bargeton, B., Ulbrich, M.H., Isacoff, E.Y., Kellenberger, S., and Benton, R. (2011). Functional Architecture of Olfactory Ionotropic Glutamate Receptors. Neuron 69, 44-60.
- Acin, P., Carrascal, M., Abian, J., Guerrero, A., and Quero, C. (2009). Expression of differential antennal proteins in males and females of an important crop pest, *Sesamia nonagrioides*. Insect Biochemistry and Molecular Biology 39, 11-19.
- Ai, M., Min, S., Grosjean, Y., Leblanc, C., Bell, R., Benton, R., and Suh, G.S.B. (2010). Acid sensing by the *Drosophila* olfactory system. Nature 468, 691-695.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., and Lipman, D.J. (1990). Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology 215, 403-410.
- Ameline, A. (1999). Identification de la phéromone sexuelle de *Sesamia nonagrioides* (Lep., Noctuidae) et contribution à la compréhension des mécanismes de la confusion sexuelle : Etude comportementale, physico-chimique et piégeage sexuel (Université Paris-Nord).
- Andrews, S. (2010). FASTQC. A quality control tool for high throughput sequence data. URL <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>.
- Angeli, S., Ceron, F., Scaloni, A., Monti, M., Monteforti, G., Minnocci, A., Petacchi, R., and Pelosi, P. (1999). Purification, structural characterization, cloning and immunocytochemical localization of chemoreception proteins from *Schistocerca gregaria*. European Journal of Biochemistry 262, 745-754.
- Anglade, P. (1972). Les Sésamies. In Entomologie appliquée à l'agriculture Tome II, Lépidoptères, II (Paris, France, Masson et Cie), pp. 1389-1401.
- Avise, J.C. (1998). The history and purview of phylogeography: a personal reflection. Molecular Ecology 7, 371-379.
- Babilis, N., and Mazomenos, B. (1992). Mating behaviour of the corn stalk borer *Sesamia nonagrioides*. Entomologia Experimentalis et Applicata 65, 199-204.
- Baker, T.C., and Vogt, R.G. (1988). Measured behavioural latency in response to sex-pheromone loss in the large silk moth *Antheraea polyphemus*. Journal of Experimental Biology 137, 29-38.
- Bargmann, C.I. (2006). Comparative chemosensation from receptors to ecology. Nature 444, 295-301.
- Barron, A.B. (2001). The life and death of Hopkins' host-selection principle. Journal of Insect Behavior 14, 725-737.
- Bengtsson, J.M., Trona, F., Montagné, N., Anfora, G., Ignell, R., Witzgall, P., and Jacquini-Joly, E. (2012). Putative chemosensory receptors of the codling moth, *Cydia pomonella*, identified by antennal transcriptome analysis. PLoS ONE 7(2):e31620.
- Benton, R., Sachse, S., Michnick, S.W., and Vosshall, L.B. (2006). Atypical membrane topology and heteromeric function of *Drosophila* odorant receptors *in vivo*. PLoS Biology 4, e20.
- Benton, R., Vannice, K.S., Gomez-Diaz, C., and Vosshall, L.B. (2009). Variant Ionotropic Glutamate Receptors as Chemosensory Receptors in *Drosophila*. Cell 136, 149-162.
- Benton, R., Vannice, K.S., and Vosshall, L.B. (2007). An essential role for a CD36-related receptor in pheromone detection in *Drosophila*. Nature 450, 289-293.
- Bernays, E. A., & Chapman, R. F. (1994). *Host-plant selection by phytophagous insects*. Springer.

- Bjostad, L., and Roelofs, W. (1983). Sex pheromone biosynthesis in *Trichoplusia ni*: key steps involve delta-11 desaturation and chain-shortening. *Science* 220, 1387-1389.
- Bjostad, L.B., and Roelofs, W.L. (1984). Sex-pheromone biosynthetic precursors in *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry* 14, 275-278.
- Blackiston, D.J., Casey, E.S., and Weiss, M.R. (2008). Retention of memory through metamorphosis: can a moth remember what it learned as a caterpillar? *Plos ONE* 3, 1-7.
- Blair, T., Pachauri, R., Schellnhuber, H.J., Cramer, W., Nakicenovic, N., Wigley, T., and Yohe, G. (2006). *Avoiding dangerous climate change* (Cambridge University Press).
- Brigaud, I., Montagné, N., Monsempes, C., François, M.-C., and Jacquin-Joly, E. (2009). Identification of an atypical insect olfactory receptor subtype highly conserved within noctuids. *FEBS Journal* 276, 6537-6547.
- Buck, L., and Axel, R. (1991). A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* 65, 175-187.
- Butenandt, A., Beckmann, R., Stamm, D., and Hecker, E. (1959). Über den sexual-lockstoff des seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und Konstitution. *Zeitschrift für Naturforschung* 14, 283-284.
- Calatayud P.-A., D.N., Le Gall P. (2013a). Caractéristiques chimiques des plantes. In: *Interactions Insectes - Plantes*, Sauvion N., Calatayud P.-A., Thiéry D. and Marion-Poll F. (Eds). IRD & Quae Editions.
- Calatayud P.-A., M.-P.F., Thiéry D (2013b). La réception sensorielle chez les insectes. n: *Interactions Insectes - Plantes*, Sauvion N., Calatayud P.-A., Thiéry D. and Marion-Poll F. (Eds). IRD & Quae Editions.
- Callahan, F.E., Vogt, R.G., Tucker, M.L., Dickens, J.C., and Mattoo, A.K. (2000). High level expression of "male specific" pheromone binding proteins (PBPs) in the antennae of female noctuid moths. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 30, 507-514.
- Calvo, D., Gómez-Coronado, D., Suárez, Y., Lasunción, M.A., and Vega, M.A. (1998). Human CD36 is a high affinity receptor for the native lipoproteins HDL, LDL, and VLDL. *Journal of Lipid Research* 39, 777-788.
- Castrejon, F., Virgen, A., and Rojas, J.C. (2006). Influence of Chemical Cues from Host Plants on the Behavior of Neonate *Estigmene acrea* Larvae (Lepidoptera: Arctiidae). *Environmental Entomology* 35, 700-707.
- Chevreur, B., Wetter, T., and Suhai, S. (1999). Genome Sequence Assembly Using Trace Signals and Additional Sequence Information. Paper presented at: German Conference on Bioinformatics.
- Chyb, S., Dahanukar, A., Wickens, A., and Carlson, J.R. (2003). *Drosophila* Gr5a encodes a taste receptor tuned to trehalose. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 Suppl 2, 14526-14530.
- Clyne, P.J., Warr, C.G., and Carlson, J.R. (2000). Candidate taste receptors in *Drosophila*. *Science* 287, 1830-1834.
- Clyne, P.J., Warr, C.G., Freeman, M.R., Lessing, D., Kim, J., and Carlson, J.R. (1999). A novel family of divergent seven-transmembrane proteins: Candidate odorant receptors in *Drosophila*. *Neuron* 22, 327-338.
- Croset, V., Rytz, R., Cummins, S.F., Budd, A., Brawand, D., Kaessmann, H., Gibson, T.J., and Benton, R. (2010). Ancient Protostome Origin of Chemosensory Ionotropic Glutamate Receptors and the Evolution of Insect Taste and Olfaction. *PLoS Genetics* 6, e1001064.
- Curran, E.D., Wilf, P., Wing, S.L., Labandeira, C.C., Lovelock, E.C., and Royer, D.L. (2008). Sharply increased insect herbivory during the Paleocene–Eocene Thermal Maximum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 1960-1964.

- Dahanukar, A., Foster, K., van der Goes van Naters, W.M., and Carlson, J.R. (2001). A Gr receptor is required for response to the sugar trehalose in taste neurons of *Drosophila*. *Nature Neuroscience* 4, 1182-1186.
- Davis, J.M., and Stamps, J.A. (2004). The effect of natal experience on habitat preferences. *Trends in Ecology and Evolution* 19, 411-416.
- de Santis, F., Francois, M.C., Merlin, C., Pelletier, J., Maibeche-Coisne, M., Conti, E., and Jacquin-Joly, E. (2006). Molecular cloning and in Situ expression patterns of two new pheromone-binding proteins from the corn stemborer *Sesamia nonagrioides*. *Journal of Chemical Ecology* 32, 1703-1717.
- Decoin, M. (1998). Maïs génétiquement modifiés: Tolérances aux insectes, aux herbicides: que pourra-t-on semer au printemps prochain? *Phytoma-la Defense des Vegetaux*, 28-30.
- Delgado, D. (1929). Las orugas del maíz. *Boletin de Patologia Vegetal y de Entomologia Agricola* 4, 1-20.
- DeLucia, E.H., Casteel, C.L., Nabity, P.D., and O'Neill, B.F. (2008). Insects take a bigger bite out of plants in a warmer, higher carbon dioxide world. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 1781-1782.
- Dethier, V.G. (1982). Mechanisms of host plant recognition. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 31, 49-56.
- Dethier, V.G., and Schoonhoven, L.M. (1969). Olfactory coding by lepidopterous larvae. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 12, 535-543.
- Deutsch, C.A., Tewksbury, J.J., Huey, R.B., Sheldon, K.S., Ghalambor, C.K., Haak, D.C., and Martin, P.R. (2008). Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 6668-6672.
- Dunipace, L., Meister, S., McNealy, C., and Amrein, H. (2001). Spatially restricted expression of candidate taste receptors in the *Drosophila* gustatory system. *Current Biology* 11, 822-835.
- Dunkelblum, E., Kehat, M., Harel, M., and Gordon, D. (1987). Sexual behaviour and pheromone titre of the *Spodoptera littoralis* female moth. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 44, 241-247.
- Eizaguirre, M., and Fantinou, A.A. (2012). Abundance of *Sesamia nonagrioides* (Lef.) (Lepidoptera: Noctuidae) on the edges of the Mediterranean basin. *Psyche: A Journal of Entomology* 2012, 854045-Article ID 854045.
- Elmore, T., Ignell, R., Carlson, J.R., and Smith, D.P. (2003). Targeted mutation of a *Drosophila* odor receptor defines receptor requirement in a novel class of sensillum. *The Journal of Neuroscience* 23, 9906-9912.
- Engsontia, P., Sanderson, A.P., Cobb, M., Walden, K.K., Robertson, H.M., and Brown, S. (2008). The red flour beetle's large nose: an expanded odorant receptor gene family in *Tribolium castaneum*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 38, 387-397.
- Faure, A., Bize, J.-M., Lemaitre, C., Guery, B., Larue, P., Rey, M., Eychenne, N., Delos, M., Moinard, J., and Frerot, B. (1999). Lutte contre la Sésamie en deuxième génération: Sésamie du maïs. *Phytoma-la Defense des Vegetaux*, 23-28.
- Ferkovich, S.M., Van Essen, F., and Taylor, T.R. (1980). Hydrolysis of sex pheromone by antennal esterases of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Chemical Senses* 5, 33-45.
- Foret, S., Wanner, K.W., and Maleszka, R. (2007). Chemosensory proteins in the honey bee: Insights from the annotated genome, comparative analyses and expressional profiling. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 37, 19-28.

- Forstner, M., Gohl, T., Gondesens, I., Raming, K., Breer, H., and Krieger, J. (2008). Differential expression of SNMP-1 and SNMP-2 proteins in pheromone-sensitive hairs of moths. *Chemical Senses* 33, 291-299.
- Foster, S., and Roelofs, W. (1988). Sex pheromone biosynthesis in the leafroller moth *Planotortix excessana* by $\Delta 10$ desaturation. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 8, 1-9.
- Foster, S.P., and Roelofs, W.L. (1996). Sex pheromone biosynthesis in the tortricid moth, *Ctenopseustis herana* (Felder & Rogenhofer). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 33, 135-147.
- Frérot, B., Guillon, M., Bernard, P., Madrennes, L., De Schepper, B., Mathieu, F., and Coeur D'Acier, A. (1997a). Mating disruption on pink corn borer, *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lep., Noctuidae). *Technology Transfer in Mating Disruption. IOBC wprs Bulletin* 20, 119-128.
- Frérot, B., Malosse, C., and Cain, M.-H. (1997b). Solid-phase microextraction (SPME): a new tool in pheromone identification in Lepidoptera. *Journal of High Resolution Chromatography* 20, 340-342.
- Gao, Q., and Chess, A. (1999). Identification of candidate *Drosophila* olfactory receptors from genomic DNA sequence. *Genomics* 60, 31-39.
- Gardiner, A., Barker, D., Butlin, R.K., Jordan, W.C., and Ritchie, M.G. (2008). *Drosophila* chemoreceptor gene evolution: selection, specialization and genome size. *Molecular Ecology* 17, 1648-1657.
- Gong, D.-P., Zhang, H.-j., Zhao, P., Lin, Y., Xia, Q.-Y., and Xiang, Z.-H. (2007). Identification and expression pattern of the chemosensory protein gene family in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 37, 266-277.
- Gong, D.-P., Zhang, H.-J., Zhao, P., Xia, Q.-Y., and Xiang, Z.-H. (2009). The Odorant Binding Protein Gene Family from the Genome of Silkworm, *Bombyx mori*. *BMC Genomics* 10, 332.
- Grabherr, M.G., Haas, B.J., Yassour, M., Levin, J.Z., Thompson, D.A., Amit, I., Adiconis, X., Fan, L., Raychowdhury, R., and Zeng, Q. (2011). Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nature Biotechnology* 29, 644-652.
- Grosjean, Y., Rytz, R., Farine, J.-P., Abuin, L., Cortot, J., Jefferis, G.S.X.E., and Benton, R. (2011). An olfactory receptor for food-derived odours promotes male courtship in *Drosophila*. *Nature* 478, 236-240.
- Große-Wilde, E., Gohl, T., Bouché, E., Breer, H., and Krieger, J. (2007). Candidate pheromone receptors provide the basis for the response of distinct antennal neurons to pheromonal compounds. *European Journal of Neuroscience* 25, 2364-2373.
- Große-Wilde, E., Kuebler, L.S., Bucks, S., Vogel, H., Wicher, D., and Hansson, B.S. (2011). Antennal transcriptome of *Manduca sexta*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 7449-7454.
- Große-Wilde, E., Svatoš, A., and Krieger, J. (2006). A pheromone-binding protein mediates the bombykol-induced activation of a pheromone receptor *in vitro*. *Chemical Senses* 31, 547-555.
- Gu, X., Trigatti, B., Xu, S., Acton, S., Babitt, J., and Krieger, M. (1998). The efficient cellular uptake of high density lipoprotein lipids *via* scavenger receptor class B type I requires not only receptor-mediated surface binding but also receptor-specific lipid transfer mediated by its extracellular domain. *Journal of Biological Chemistry* 273, 26338-26348.
- Guo, S., and Kim, J. (2007). Molecular evolution of *Drosophila* odorant receptor genes. *Mol Biol Evol* 24, 1198-1207.

- Hallem, E.A., Ho, M.G., and Carlson, J.R. (2004). The Molecular Basis of Odor Coding in the *Drosophila* Antenna. *Cell* 117, 965-979.
- Hamilton, J.G., Dermody, O., Aldea, M., Zangerl, A.R., Rogers, A., Berenbaum, M.R., and Delucia, E.H. (2005). Anthropogenic changes in tropospheric composition increase susceptibility of soybean to insect herbivory. *Environmental Entomology* 34, 479-485.
- Hewitt, G. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405, 907-913.
- Hill, C.A., Fox, A.N., Pitts, R.J., Kent, L.B., Tan, P.L., Chrystal, M.A., Cravchik, A., Collins, F.H., Robertson, H.M., and Zwiebel, L.J. (2002). G protein-coupled receptors in *Anopheles gambiae*. *Science* 298, 176-178.
- Hopkins, A.D. (1917). A description of G.C. Hewitt's paper on "Insect behavior as a factor in applied entomology". *Journal of Economic Entomology* 10, 92-93.
- Houghton, J.T., Ding, Y., Griggs, D.J., Noguer, M., van der Linden, P.J., Dai, X., Maskell, K., and Johnson, C. (2001). Climate change 2001: the scientific basis, Vol 881 (Cambridge University Press Cambridge).
- Hulme, M., and Gray, T. (1994). Mating disruption of Douglas-fir tussock moth (Lepidoptera: Lymantriidae) using a sprayable bead formulation of Z-6-Heneicosen-11-one. *Environmental Entomology* 23, 1097-1100.
- Iglesias, F., Jacquin-Joly, E., Marco, M.P., Camps, F., and Fabrias, G. (1999). Temporal distribution of PBAN-like immunoreactivity in the hemolymph of *Mamestra brassicae* females in relation to sex pheromone production and calling behavior. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 40, 80-87.
- Ishida, Y., and Leal, W.S. (2005). Rapid inactivation of a moth pheromone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 14075-14079.
- Ishimoto, H., Takahashi, K., Ueda, R., and Tanimura, T. (2005). G-protein gamma subunit 1 is required for sugar reception in *Drosophila*. *The Embo Journal* 24, 3259-3265.
- Isono, K., and Morita, H. (2010). Molecular and cellular designs of insect taste receptor system. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 4, 20.
- Jackson, S.T., and Overpeck, J.T. (2000). Responses of plant populations and communities to environmental changes of the late Quaternary. *Paleobiology* 26, 194-220.
- Jacquin-Joly, E., Legeai, F., Montagné, N., Monsempes, C., François, M.C., Poulain, J., Gavory, F., Walker III, W.B., Hansson, B.S., and Larsson, M.C. (2012). Candidate chemosensory Genes In Female Antennae Of The Noctuid Moth *Spodoptera littoralis*. *Int J Biol Sci* 8, 1036.
- Jacquin-Joly, E., and Merlin, C. (2004). Insect olfactory receptors: contributions of molecular biology to chemical ecology. *Journal of Chemical Ecology* 30, 2359-2397.
- Jacquin-Joly, E., Vogt, R.G., François, M.-C., and Nagnan-Le Meillour, P. (2001). Functional and Expression Pattern Analysis of Chemosensory Proteins Expressed in Antennae and Pheromonal Gland of *Mamestra brassicae*. *Chemical Senses* 26, 833-844.
- Jin, X., Ha, T.S., and Smith, D.P. (2008). SNMP is a signaling component required for pheromone sensitivity in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 10996-11001.
- Jones, W.D., Cayirlioglu, P., Kadow, I.G., and Vosshall, L.B. (2007). Two chemosensory receptors together mediate carbon dioxide detection in *Drosophila*. *Nature* 445, 86-90.
- Jones, W.D., Nguyen, T.-A.T., Kloss, B., Lee, K.J., and Vosshall, L.B. (2005). Functional conservation of an insect odorant receptor gene across 250 million years of evolution. *Current Biology* 15, R119-R121.
- Jordan, M.D., Stanley, D., Marshall, S.D.G., De Silva, D., Crowhurst, R.N., Gleave, A.P., Greenwood, D.R., and Newcomb, R.D. (2008). Expressed sequence tags and proteomics of antennae from the tortricid moth, *Epiphyas postvittana*. *Insect Molecular Biology* 17, 361-373.

- Jurenka, R. (2003). Biochemistry of female moth sex pheromones. In G. Blomquist, and R. Vogt (Eds.). *Pheromone biochemistry and molecular biology*. New York, Academic Press.
- Jurenka, R.A. (2004). Insect pheromone biosynthesis. *Topics in Current Chemistry* 239, 97-132.
- Jurenka, R., and Roelofs, W. (1993). In *Insect lipids: chemistry, biochemistry and biology* D. Stanley-Samuelson, and D. Nelson, eds. (University of Nebraska Press, Lincoln), p. 353.
- Jurenka, R.A., Fabrias, G., and Roelofs, W.L. (1991). Hormonal control of female sex pheromone biosynthesis in the redbanded leafroller moth, *Argyrotaenia velutinana*. *Insect Biochemistry* 21, 81-89.
- Jurenka, R.A., Haynes, K.F., Adlof, R.O., Bengtsson, M., and Roelofs, W.L. (1994). Sex pheromone component ratio in the cabbage looper moth altered by a mutation affecting the fatty acid chain-shortening reactions in the pheromone biosynthetic pathway. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 24, 373-381.
- Kader, N.J.A. (2012). Étude écologique et phylogéographique de *Sesamia nonagrioides* Lef (Lepidoptera noctuidae) à partir de marqueurs moléculaires (Université Pierre et Marie Curie), 47p.
- Kain, P., Badsha, F., Hussain, S.M., Nair, A., Hasan, G., and Rodrigues, V. (2010). Mutants in phospholipid signaling attenuate the behavioral response of adult *Drosophila* to trehalose. *Chemical Senses* 35, 663-673.
- Kaissling, K.-E. (1986). Chemo-electrical transduction in insect olfactory receptors. *Annual Review of Neuroscience* 9, 121-145.
- Kaissling, K.-E. (1998). Flux detectors versus concentration detectors: two types of chemoreceptors. *Chemical Senses* 23, 99-111.
- Kaissling, K.-E. (2004). Physiology of pheromone reception in insects (an example of moths). *Anir* 6, 73-91.
- Kaissling, K.-E. (2009). Olfactory perireceptor and receptor events in moths: a kinetic model revised. *Journal of Comparative Physiology A* 195, 895-922.
- Karlson, P., and Luscher, M. (1959). 'Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. *Nature* 183, 55-56.
- Kasang, G., Nicholls, M., and von, P., L. (1989). Sex pheromone conversion and degradation in antennae of the silkmoth *Bombyx mori* L. *Experientia* 45, 81-87.
- Kent, L.B., Walden, K.K., and Robertson, H.M. (2008). The Gr Family of Candidate Gustatory and Olfactory Receptors in the Yellow-Fever Mosquito *Aedes aegypti*. *Chemical Senses* 33, 79-93.
- Kiely, A., Authier, A., Kralicek, A.V., Warr, C.G., and Newcomb, R.D. (2007). Functional analysis of a *Drosophila melanogaster* olfactory receptor expressed in Sf9 cells. *Journal of Neuroscience Methods* 159, 189-194.
- Kirkness, E.F., Haas, B.J., Sun, W., Braig, H.R., Perotti, M.A., Clark, J.M., Lee, S.H., Robertson, H.M., Kennedy, R.C., Elhaik, E., *et al.* (2010). Genome sequences of the human body louse and its primary endosymbiont provide insights into the permanent parasitic lifestyle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, 12168-12173.
- Klein, A.M., Steffan-Dewenter, I., and Tschamtkke, T. (2003). Pollination of *Coffea canephora* in relation to local and regional agroforestry management. *Journal of Applied Ecology* 40, 837-845.
- Knudsen, J.T., Eriksson, R., Gershenzon, J., and Ståhl, B. (2006). Diversity and distribution of floral scent. *The Botanical Review* 72, 1-120.

- Konstantopoulou, M., Krokos, F., and Mazomenos, B. (2004). Chemical composition of corn leaf essential oils and their role in the oviposition behavior of *Sesamia nonagrioides* females. *Journal of Chemical Ecology* 30, 2243-2256.
- Konstantopoulou, M., Pratsinis, H., Kletsas, D., and Mazomenos, B.E. (2006). Pheromone-binding protein and general odorant-binding protein of *Sesamia nonagrioides*: sex- and diel-dependent expression. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 119, 129-136.
- Kopp, A., Barmina, O., Hamilton, A.M., Higgins, L., McIntyre, L.M., and Jones, C.D. (2008). Evolution of gene expression in the *Drosophila* olfactory system. *Molecular biology and evolution* 25, 1081-1092.
- Krieger, J., Große-Wilde, E., Gohl, T., and Breer, H. (2005). Candidate pheromone receptors of the silkmoth *Bombyx mori*. *European Journal of Neuroscience* 21, 2167-2176.
- Krieger, J., Klink, O., Mohl, C., Raming, K., and Breer, H. (2003). A candidate olfactory receptor subtype highly conserved across different insect orders. *Journal of Comparative Physiology A* 189, 519-526.
- Krieger, J., Raming, K., Dewer, Y.M.E., Bette, S., Conzelmann, S., and Breer, H. (2002). A divergent gene family encoding candidate olfactory receptors of the moth *Heliothis virescens*. *European Journal of Neuroscience* 16, 619-628.
- Krieger, M. (1999). Charting the fate of the “good cholesterol”: identification and characterization of the high-density lipoprotein receptor SR-BI. *Annual review of biochemistry* 68, 523-558.
- Krokos, F.D., Konstantopoulou, M.A., and Mazomenos, B.E. (2002). Chemical characterisation of corn plant compounds by different extraction techniques and the role of potent chemicals in the reproductive behaviour of the corn stalk borer *Sesamia nonagrioides*. In IOBC wprs Bulletin, Use of pheromones and other semiochemicals in integrated production, pp. 1-9.
- Kwon, J.Y., Dahanukar, A., Weiss, L.A., and Carlson, J.R. (2007). The molecular basis of CO₂ reception in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 3574-3578.
- Larsson, M.C., Domingos, A.I., Jones, W.D., Chiappe, M.E., Amrein, H., and Vosshall, L.B. (2004). Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. *Neuron* 43, 703-714.
- Larue, P. (1984). La Sésamie (*Sesamia nonagrioides* Lef.) : dégâts et actualisation de la lutte. *Phytoma - La défense des végétaux* 277, 163-171.
- Laue, M., Steinbrecht, R.A., and Ziegelbeger, G. (1994). Immunocytochemical localization of general odorant-binding protein in olfactory sensilla of the silkmoth *Antheraea polyphemus*. *Naturwissenschaften* 81, 178-180.
- Laughlin, J.D., Ha, T.S., Jones, D.N.M., and Smith, D.P. (2008). Activation of Pheromone-Sensitive Neurons Is Mediated by Conformational Activation of Pheromone-Binding Protein. *Cell* 133, 1255-1265.
- Le Ru, B.P., Ong'amo, G.O., Moyal, P., Ngala, L., Musyoka, B., Abdullah, Z., Cugala, D., Defabachew, B., Haile, T.A., Matama, T.K., *et al.* (2006). Diversity of lepidopteran stem borers on monocotyledonous plants in eastern Africa and the islands of Madagascar and Zanzibar revisited. *Bulletin of Entomological Research* 96, 555-563.
- Leal, W.S., Nikonova, L., and Peng, G. (1999). Disulfide structure of the pheromone binding protein from the silkworm moth, *Bombyx mori*. *FEBS Letters* 464, 85-90.
- Leal, W.S., Parra-Pedrazzoli, A.L., Kaissling, K.E., Morgan, T.I., Zalom, F.G., Pesak, D.J., Dundulis, E.A., Burks, C.S., and Higbee, B.S. (2005). Unusual pheromone chemistry in the navel orangeworm: novel sex attractants and a behavioral antagonist. *Naturwissenschaften* 92, 139-146.

- Leary, G.P., Allen, J.E., Bunger, P.L., Luginbill, J.B., Linn, C.E., Jr., Macallister, I.E., Kavanaugh, M.P., and Wanner, K.W. (2012). Single mutation to a sex pheromone receptor provides adaptive specificity between closely related moth species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *109*, 14081-14086.
- Lee, Y., Kang, M.J., Shim, J., Cheong, C.U., Moon, S.J., and Montell, C. (2012). Gustatory receptors required for avoiding the insecticide L-canavanine. *The journal of Neuroscience* *32*, 1429-1435.
- Lee, Y., Moon, S.J., and Montell, C. (2009). Multiple gustatory receptors required for the caffeine response in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *106*, 4495-4500.
- Lefèbvre (1827). *Cossus nonagrioides*. *Annales de la Société Linnéenne de Paris* *6*, 98.
- Legeai, F., Malpel, S., Montagne, N., Monsempe, C., Cousserans, F., Merlin, C., Francois, M.C., Maïbeche-Coisne, M., Gavory, F., Poulain, J., *et al.* (2011). An Expressed Sequence Tag collection from the male antennae of the Noctuid moth *Spodoptera littoralis*: a resource for olfactory and pheromone detection research. *BMC Genomics* *12*, 86.
- Leyenaar, P., and Hunter, R. (1977). Effect of stem borer damage on yield in the coastal savanna zone in Ghana. *Ghana Journal of Agricultural Sciences* *10*, 67-70.
- Littleton, J.T., and Ganetzky, B. (2000). Ion Channels and Synaptic Organization: Analysis of the *Drosophila* Genome. *Neuron* *26*, 35-43.
- Liu, Y., Gu, S., Zhang, Y., Guo, Y., and Wang, G. (2012). Candidate olfaction genes identified within the *Helicoverpa armigera* Antennal Transcriptome. *PLoS ONE* *7*, e48260.
- Ljungberg, H., Anderson, P., and Hansson, B.S. (1993). Physiology and morphology of pheromone-specific sensilla on the antennae of male and female *Spodoptera littoralis* (lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Physiology* *39*, 253-260.
- Lovelock, J. (2007). *The revenge of gaia: earth's climate crisis & the fate of humanity* (Basic Books).
- Maïbeche-Coisne, M., Jacquin-Joly, E., François, M.-C., and Nagnan-Le, M., P. (1998). Molecular cloning of two pheromone binding proteins in the cabbage armyworm *Mamestra brassicae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* *28*, 815-818.
- Maïbeche-Coisné, M., Merlin, C., Francois, M.-C., Queguiner, I., Porcheron, P., and Jacquin-Joly, E. (2004). Putative odorant-degrading esterase cDNA from the moth *Mamestra brassicae*: cloning and expression patterns in male and female antennae. *Chemical Senses* *29*, 381-390.
- Maïbeche-Coisne, M., Merlin, C., Francois, M.C., Porcheron, P., and Jacquin-Joly, E. (2005). P450 and P450 reductase cDNAs from the moth *Mamestra brassicae*: cloning and expression patterns in male antennae. *Gene* *346*, 195-203.
- Maida, R., Ziegelberger, G., and Kaissling, K.E. (2003). Ligand binding to six recombinant pheromone-binding proteins of *Antheraea polyphemus* and *Antheraea pernyi*. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* *173*, 565-573.
- Malpel, S., Merlin, C., François, M.C., and Jacquin-Joly, E. (2008). Molecular identification and characterization of two new Lepidoptera chemoreceptors belonging to the *Drosophila melanogaster* OR83b family. *Insect Molecular Biology* *17*, 587-596.
- Marioni, J.C., Mason, C.E., Mane, S.M., Stephens, M., and Gilad, Y. (2008). RNA-seq: An assessment of technical reproducibility and comparison with gene expression arrays. *Genome Research* *18*, 1509-1517.

- Martinez, T., Fabrias, G., and Camps, F. (1990). Sex pheromone biosynthetic pathway in *Spodoptera littoralis* and its activation by a neurohormone. *Journal of Biological Chemistry* 265, 1381-1387.
- Mas, E., Lloria, J., Quero, C., Camps, F., and Fabrias, G. (2000). Control of the biosynthetic pathway of *Sesamia nonagrioides* sex pheromone by the pheromone biosynthesis activating neuropeptide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 30, 455-459.
- Matsuo, T., Sugaya, S., Yasukawa, J., Aigaki, T., and Fuyama, Y. (2007). Odorant-binding proteins OBP57d and OBP57e affect taste perception and host-plant preference in *Drosophila sechellia*. *PLoS Biology* 5, e118.
- Mazomenos, B.E. (1989). Sex pheromone components of corn stalk borer, *Sesamia nonagrioides* (Lef.). Partial chemical purification and its biological activity under laboratory conditions. *Journal of Chemical Ecology* 6, 565-572.
- McCarty, J.P. (2001). Ecological consequences of recent climate change. *Conservation Biology* 15, 320-331.
- Melamed-Madjar, V., and Tam, S. (1980). A field survey of changes in the composition of corn borer population in Israel. *Phytoparasitica* 8, 201-204.
- Mercier, J.-L., Errard C., Frérot B. (2013). L'identité chimique des insectes. In: Sauvion N., Calatayud P.-A., Thiéry D. and Marion-Poll F. (Eds). *Interactions Insectes - Plantes*. Editions IRD-Quae.
- Merlin, C., Lucas, P., Rochat, D., Francois, M.C., Maibeche-Coisne, M., and Jacquin-Joly, E. (2007a). An antennal circadian clock and circadian rhythms in peripheral pheromone reception in the moth *Spodoptera littoralis*. *Journal of Biological Rhythms* 22, 502-514.
- Merlin, C., Rosell, G., Carot-Sans, G., Francois, M.C., Bozzolan, F., Pelletier, J., Jacquin-Joly, E., Guerrero, A., and Maibeche-Coisne, M. (2007b). Antennal esterase cDNAs from two pest moths, *Spodoptera littoralis* and *Sesamia nonagrioides*, potentially involved in odourant degradation. *Insect Molecular Biology* 16, 73-81.
- Milaire, H.G. (1995). A propos de quelques définitions [lutte phytosanitaire]. *Phytoma La Defense des Vegetaux*.
- Mita, K., Kasahara, M., Sasaki, S., Nagayasu, Y., Yamada, T., Kanamori, H., Namiki, N., Kitagawa, M., Yamashita, H., Yasukochi, Y., *et al.* (2004). The genome sequence of silkworm, *Bombyx mori*. *DNA Research* 11, 27-35.
- Mitchell, B.K., Itagaki, H., and Rivet, M.P. (1999). Peripheral and central structures involved in insect gustation. *Microscopy Research and Technique* 47, 401-415.
- Mitsuno, H., Sakurai, T., Murai, M., Yasuda, T., Kugimiya, S., Ozawa, R., Toyohara, H., Takabayashi, J., Miyoshi, H., and Nishioka, T. (2008). Identification of receptors of main sex-pheromone components of three Lepidopteran species. *European Journal of Neuroscience* 28, 893-902.
- Miura, N., Nakagawa, T., Tatsuki, S., Touhara, K., and Ishikawa, Y. (2009). A male-specific odorant receptor conserved through the evolution of sex pheromones in *Ostrinia* moth species. *International Journal of Biological Sciences* 5, 319.
- Miyamoto, T., and Amrein, H. (2008). Suppression of male courtship by a *Drosophila* pheromone receptor. *Nature neuroscience* 11, 874-876.
- Montagne, N., Chertemps, T., Brigaud, I., Francois, A., Francois, M.C., de Fouchier, A., Lucas, P., Larsson, M.C., and Jacquin-Joly, E. (2012). Functional characterization of a sex pheromone receptor in the pest moth *Spodoptera littoralis* by heterologous expression in *Drosophila*. *European Journal of Neuroscience* 36, 2588-2596.
- Montell, C. (2009). A taste of the *Drosophila* gustatory receptors. *Current Opinion in Neurobiology* 19, 345-353.
- Moon, S.J., Kottgen, M., Jiao, Y., Xu, H., and Montell, C. (2006). A taste receptor required for the caffeine response *in vivo*. *Current Biology* 16, 1812-1817.

- Moran, S. (2006). Biodiversité et changement global : réponses adaptatives au changement global : résultats et prospective.
- Morse, D., and Meighen, E. (1987). Pheromone biosynthesis: enzymatic studies in Lepidoptera. In: G.D. Prestwich, and G.J. Blomquist (Eds.), Pheromone biochemistry. Academic Press, pp. 212-215.
- Moyal, P., Tokro, P., Bayram, A., Savopoulou-Soultani, M., Conti, E., Eizaguirre, M., Le Rue, B., Avand-Faghih, A., Frerot, B., and Andreadis, S. (2011). Origin and taxonomic status of the Palearctic population of the stem borer *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae). Biological Journal of the Linnean Society 103, 904-922.
- Muñoz, L., Rosell, G., Quero, C., and Guerrero, A. (2008). Biosynthetic pathways of the pheromone of the Egyptian armyworm *Spodoptera littoralis*. Physiological Entomology 33, 275-290.
- Naibo, B. (1999). Mais transgéniques>: des effets sur la Sesamie. Phytoma-la Defense des Vegetaux, 29-29.
- Nakagawa, T., Sakurai, T., Nishioka, T., and Touhara, K. (2005). Insect sex-pheromone signals mediated by specific combinations of olfactory receptors. Science 307, 1638-1642.
- Nei, M., and Rooney, A.P. (2005). Concerted and birth-and-death evolution of multigene families. Annual Review of Genetics 39, 121.
- Nichols, Z., and Vogt, R.G. (2008). The SNMP/CD36 gene family in Diptera, Hymenoptera and Coleoptera: *Drosophila melanogaster*, *D. pseudoobscura*, *Anopheles gambiae*, *Aedes aegypti*, *Apis mellifera*, and *Tribolium castaneum*. Insect Biochemistry and Molecular Biology 38, 398-415.
- Nye, I.W.B. (1960). The insect pests of graminaceous crops in East Africa. Report of a survey carried out between March 1956 and April 1958 (London, Colonial Office. Her Majesty's Stationery Office).
- Ohno, S. (1970). Evolution by gene duplication (London: George Allen & Unwin Ltd. Berlin, Heidelberg and New York: Springer-Verlag.).
- Olivier, V., Monsempe, C., Francois, M.C., Poivet, E., and Jacquín-Joly, E. (2011). Candidate chemosensory ionotropic receptors in a Lepidoptera. Chemical Senses 36, E64-E65.
- Oshlack, A., Robinson, M.D., and Young, M.D. (2010). From RNA-seq reads to differential expression results. Genome Biology 11, 220.
- Ozaki, K., Ryuda, M., Yamada, A., Utoguchi, A., Ishimoto, H., Calas, D., Marion-Poll, F., Tanimura, T., and Yoshikawa, H. (2011). A gustatory receptor involved in host plant recognition for oviposition of a swallowtail butterfly. Nature Communication 2, 542.
- Pelletier, J., Guidolin, A., Syed, Z., Cornel, A., and Leal, W. (2010). Knockdown of a Mosquito Odorant-binding Protein Involved in the Sensitive Detection of Oviposition Attractants. Journal of Chemical Ecology 36, 245-248.
- Pelosi, P., Zhou, J., Ban, L., and Calvello, M. (2006). Soluble proteins in insect chemical communication. Cellular and Molecular Life Sciences 63, 1658-1676.
- Pelz, D., Roeske, T., Syed, Z., Bruyne, M.d., and Galizia, C.G. (2006). The molecular receptive range of an olfactory receptor in vivo (*Drosophila melanogaster* Or22a). Journal of Neurobiology 66, 1544-1563.
- Perfecto, I., Vandermeer, J.H., Bautista, G.L., Nunez, G.I., Greenberg, R., Bichier, P., and Langridge, S. (2004). Greater predation in shaded coffee farms: the role of resident neotropical birds. Ecology 85, 2677-2681.
- Picimbon, J.F., Dietrich, K., Angeli, S., Scaloni, A., Krieger, J., Breer, H., and Pelosi, P. (2000). Purification and molecular cloning of chemosensory proteins from *Bombyx mori*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 44, 120-129.

- Piesik, D., Rochat, D., van der Pers, J., and Marion-Poll, F. (2009). Pulsed Odors from Maize or Spinach Elicit Orientation in European Corn Borer Neonate Larvae. *Journal of Chemical Ecology* 35, 1032-1042.
- Plant R., and Freudenberger D. (2005). Changes in global agriculture : A framework for diagnosing ecosystem effects and identifying response options. [prepared for WWF-Macroeconomics Program Office, Washington, DC USA], Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO), Canberra, pp. 1-19.
- Poivet, E., Gallot, A., Montagné, N., Glaser, N., Legeai, F., and Jacquin-Joly, E. (2013). A comparison of the olfactory gene repertoires of adults and larvae in the noctuid moth *Spodoptera littoralis*. *PLoS ONE In press*.
- Prestwich, G.D., McGraham, S.G., Handley, M., Latli, B., Streinz, L., and Tasayco, M.L.J. (1989). Enzymatic processing of pheromones and pheromone analogs. *Experientia* 45, 263-270.
- Rafaeli, A. (2005). Mechanisms involved in the control of pheromone production in female moths: recent developments. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115, 7-15.
- Rasmussen, J.T., Berglund, L., Rasmussen, M.S., and Petersen, T.E. (1998). Assignment of disulfide bridges in bovine CD36. *European Journal of Biochemistry* 257, 488-494.
- Reddy, G.V., and Guerrero, A. (2004). Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. *Trends in Plant Science* 9, 253-261.
- Renger, J.J., Yao, W. D., Sokolowski, M. B., and Wu, C. F. (1999). Neuronal polymorphism among natural alleles of a cGMP-dependent kinase gene, foraging, in *Drosophila*. *Journal of Neuroscience* 19, RC28-1.
- Robert, P., and Frérot, B. (1998). Comportement d'oviposition chez *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lepidoptera: Noctuidae) et effet de la présence de pontes conspécifiques. *Annales de La Société Entomologique de France* 34, 189-194.
- Robertson, H.M., Gadau, J., and Wanner, K.W. (2010). The insect chemoreceptor superfamily of the parasitoid jewel wasp *Nasonia vitripennis*. *Insect Molecular Biology* 19 Suppl 1, 121-136.
- Robertson, H.M., Martos, R., Sears, C.R., Todres, E.Z., Walden, K.K.O., and Nardi, J.B. (1999). Diversity of odourant binding proteins revealed by an expressed sequence tag project on male *Manduca sexta* moth antennae. *Insect Molecular Biology* 8, 501-518.
- Robertson, H.M., and Wanner, K.W. (2006). The chemoreceptor superfamily in the honey bee, *Apis mellifera*: Expansion of the odorant, but not gustatory, receptor family. *Genome Research* 16, 1395-1403.
- Robertson, H.M., Warr, C.G., and Carlson, J.R. (2003). Molecular evolution of the insect chemoreceptor gene superfamily in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 14537-14542.
- Robinson, G.E., Hackett, K.J., Purcell-Miramontes, M., Brown, S.J., Evans, J.D., Goldsmith, M.R., Lawson, D., Okamuro, J., Robertson, H.M., and Schneider, D.J. (2011). Creating a buzz about insect genomes. *Science* 331, 1386.
- Roelofs, W.L. (1995). Chemistry of sex attraction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92, 44-49.
- Rogers, M.E., Jani, M.K., and Vogt, R.G. (1999). An olfactory-specific glutathione-S-transferase in the sphinx moth *Manduca sexta*. *Journal of Experimental Biology* 202, 1625-1637.
- Rogers, M.E., Krieger, J., and Vogt, R.G. (2001). Antennal SNMPs (sensory neuron membrane proteins) of Lepidoptera define a unique family of invertebrate CD36-like proteins. *Journal of Neurobiology* 49, 47-61.
- Rogers, M.E., Sun, M., Lerner, M.R., and Vogt, R.G. (1997). Snmp-1, a Novel Membrane Protein of Olfactory Neurons of the Silk Moth *Antheraea polyphemus* with Homology

- to the CD36 Family of Membrane Proteins. *Journal of Biological Chemistry* 272, 14792-14799.
- Rosén, W. (2002). Endogenous control of circadian rhythms of pheromone production in the turnip moth, *Agrotis segetum* (Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company), pp. 21-30.
- Rosenzweig, C., Karoly, D., Vicarelli, M., Neofotis, P., Wu, Q., Casassa, G., Menzel, A., Root, T.L., Estrella, N., and Seguin, B. (2008). Attributing physical and biological impacts to anthropogenic climate change. *Nature* 453, 353-357.
- Rotundo, G., Tonini, C., Capizzi, A., and Maini, S. (1985). Il feromone sessuale di *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera: Noctuidae). *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria Filippo Silvestri* 42, 191-206.
- Rousseau, D. (2009). Maïs: la sésamie progresse cap au nord, dans l'air marin et la douceur angevine: Progression de la sésamie dans les Pays-de-la-Loire: à gérer dans la région, à méditer ailleurs en France. *Phytoma-La Défense des Végétaux* 622 38-41.
- Rybczynski, R., Reagan, J., and Lerner, M.R. (1989). A pheromone-degrading aldehyde oxidase in the antennae of the moth *Manduca sexta*. *The Journal of Neuroscience* 9, 1341-1353.
- Sakurai, T., Nakagawa, T., Mitsuno, H., Mori, H., Endo, Y., Tanoue, S., Yasukochi, Y., Touhara, K., and Nishioka, T. (2004). Identification and functional characterization of a sex pheromone receptor in the silkworm *Bombyx mori*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 16653-16658.
- Sandler, B.H., Nikonova, L., Leal, W.S., and Clardy, J. (2000). Sexual attraction in the silkworm moth: structure of the pheromone-binding-protein-bombykol complex. *Chemical Biology* 7, 143-151.
- Sans, A., Riba, M., Eizaguirre, M., and Lopez, C. (1997). Electroantennogram, wind tunnel and field responses of male Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides*, to several blends of its sex pheromone components. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82, 121-127.
- Sato, K., Tanaka, K., and Touhara, K. (2011). Sugar-regulated cation channel formed by an insect gustatory receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America* 108, 11680-11685.
- Scaloni, A., Monti, M., Angeli, S., and Pelosi, P. (1999). Structural analysis and disulfide-bridge pairing of two odorant-binding proteins from *Bombyx mori*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 266, 386-391.
- Schmieder, R., and Edwards, R. (2011). Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. *Bioinformatics* 27, 863-864.
- Schoonhoven, L.M., Loon, J.V., and Dicke, M. (2005). *Insect-plant biology* (Oxford University Press).
- Schwarz, D., Robertson, H., Feder, J., Varala, K., Hudson, M., Ragland, G., Hahn, D., and Berlocher, S. (2009). Sympatric ecological speciation meets pyrosequencing: sampling the transcriptome of the apple maggot *Rhagoletis pomonella*. *BMC Genomics* 10, 633.
- Slone, J., Daniels, J., and Amrein, H. (2007). Sugar receptors in *Drosophila*. *Current Biology* 17, 1809-1816.
- Smadja, C., Shi, P., Butlin, R.K., and Robertson, H.M. (2009). Large gene family expansions and adaptive evolution for odorant and gustatory receptors in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Molecular Biology and Evolution* 26, 2073-2086.
- Sreng, I., Maume, B., and Frérot, B. (1985). Analysis of the pheromonal secretion of virgin females of *Sesamia nonagrioides* (Lef.) (Lepidoptera, Noctuidae). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris* 301, 439-442.

- Städler, E. (2002). Plant chemical cues important for egg deposition by herbivorous insects. In: M. Hilker, Meiners, T. (Ed.). *Chemoecology of Insect eggs and egg deposition*. Berlin, Blackwell Publishing.
- Stavrakis, G. (1967). Contributions à l'étude des espèces nuisibles au maïs en Grèce du genre *Sesamia* (Lepidoptères—Noctuidae). *Annals of the Institute of Phytopathology Benaki*, NS 8, 19-22.
- Steinbrecht, R.A., Laue, M., and Ziegelberger, G. (1995). Immunolocalization of pheromone-binding protein and general odorant-binding protein in olfactory sensilla of the silk moths *Antheraea* and *Bombyx*. *Cell Tissue Research* 282, 203-217.
- Steinbrecht, R.A., Ozaki, M., and Ziegelberger, G. (1992). Immunocytochemical localization of pheromone-binding protein in moth antennae. *Cell Tissue Research* 270, 287-302.
- Stensmyr, M.C. (2009). *Drosophila sechellia* as a model in chemosensory neuroecology. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1170, 468-475.
- Stocker, R.F. (1994). The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review. *Cell and Tissue Research* 275, 3-26.
- Suty, L. (2010). La lutte biologique: vers de nouveaux équilibres écologiques. Editions Quae.
- Tamaki, Y. (1985). Sex pheromones. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* 9, 145-191.
- Tanaka, K., Uda, Y., Ono, Y., Nakagawa, T., Suwa, M., Yamaoka, R., and Touhara, K. (2009). Highly Selective Tuning of a Silkworm Olfactory Receptor to a Key Mulberry Leaf Volatile. *Current Biology* 19, 881-890.
- Tang, J.D., Charlton, R.E., Jurenka, R.A., Wolf, W.A., Phelan, P.L., Sreng, L., and Roelofs, W.L. (1989). Regulation of pheromone biosynthesis by a brain hormone in two moth species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 86, 1806-1810.
- Teal, P., and Tumlinson, J. (1987). The role of alcohols in pheromone biosynthesis by two noctuid moths that use acetate pheromone components. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 4, 261-269.
- Tegoni, M., Campanacci, V., and Cambillau, C. (2004). Structural aspects of sexual attraction and chemical communication in insects. *Trends in Biochemical Sciences* 29, 257-264.
- Tscharntke, T., Klein, A.M., Kruess, A., Steffan-Dewenter, I., and Thies, C. (2005). Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity–ecosystem service management. *Ecology Letters* 8, 857-874.
- Tsitsipis, J., and Alexandri, M. (1989). The corn stalk borer, *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera, Noctuidae): population fluctuation and plant infestation relationships. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 24, 213-217.
- Tylianakis, J.M., Tscharntke, T., and Lewis, O.T. (2007). Habitat modification alters the structure of tropical host–parasitoid food webs. *Nature* 445, 202-205.
- van der Goes van Naters, W., and Carlson, John R. (2007). Receptors and neurons for fly odors in *Drosophila*. *Current Biology* 17, 606-612.
- Vieira, F.G., Foret, S., He, X., Rozas, J., Field, L.M., and Zhou, J.J. (2012). Unique features of odorant-binding proteins of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* revealed by genome annotation and comparative analyses. *PLoS ONE* 7, e43034.
- Vieira, F.G., and Rozas, J. (2011). Comparative genomics of the odorant-binding and chemosensory protein gene families across the Arthropoda: origin and evolutionary history of the chemosensory system. *Genome Biology and Evolution* 3, 476-490.
- Vieira, F.G., Sanchez-Gracia, A., and Rozas, J. (2007). Comparative genomic analysis of the odorant-binding protein family in 12 *Drosophila* genomes: purifying selection and birth-and-death evolution. *Genome Biology* 8, R235.

- Vogt, R., Rybczynski, R., and Lerner, M. (1991a). Molecular cloning and sequencing of general odorant-binding proteins GOBP1 and GOBP2 from the tobacco hawk moth *Manduca sexta*: comparisons with other insect OBPs and their signal peptides. *The Journal of Neuroscience* 11, 2972-2984.
- Vogt, R.G., ed. (2005). *Molecular basis of pheromone detection in insects*. Elsevier, London.
- Vogt, R.G., Prestwich, G.D., and Lerner, M.R. (1991b). Odorant-binding-protein subfamilies associate with distinct classes of olfactory receptor neurons in insects. *Journal of Neurobiology* 22, 74-84.
- Vogt, R.G., and Riddiford, L.M. (1981). Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature* 293, 161-163.
- Vogt, R.G., Rogers, M.E., Franco, M.D., and Sun, M. (2002). A comparative study of odorant binding protein genes: differential expression of the PBP1-GOBP2 gene cluster in *Manduca sexta* (Lepidoptera) and the organization of OBP genes in *Drosophila melanogaster* (Diptera). *Journal of Experimental Biology* 205, 719-744.
- Vosshall, L.B., Amrein, H., Morozov, P.S., Rzhetsky, A., and Axel, R. (1999). A spatial map of olfactory receptor expression in the *Drosophila* antenna. *Cell* 96, 725-736.
- Vosshall, L.B., and Hansson, B.S. (2011). A unified nomenclature system for the insect olfactory coreceptor. *Chemical Senses* 36, 497-498.
- Wanner, K.W., Nichols, A.S., Allen, J.E., Bunker, P.L., Garczynski, S.F., Linn, C.E., Robertson, H.M., and Luetje, C.W. (2010). Sex pheromone receptor specificity in the European corn borer moth, *Ostrinia nubilalis*. *Plos ONE* 5, e8685.
- Wanner, K.W., and Robertson, H.M. (2008). The gustatory receptor family in the silkworm moth *Bombyx mori* is characterized by a large expansion of a single lineage of putative bitter receptors. *Insect Molecular Biology* 17, 621-629.
- Widmayer P., Heifetz Y. and Breer H. (2009). Expression of a pheromone receptor in ovipositor sensilla of the female moth (*Heliothis virescens*). *Insect Molecular Biology* 18, 541-547.
- Weiss, L.A., Dahanukar, A., Kwon, J.Y., Banerjee, D., and Carlson, J.R. (2011). The Molecular and Cellular Basis of Bitter Taste in *Drosophila*. *Neuron* 69, 258-272.
- Whittaker, R. H., & Feeny, P. P. (1971). Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science*, 171(3973), 757-770.
- Willi, Y., Dietrich, S., van Kleunen, M., and Fischer, M. (2007). Inter-specific competitive stress does not affect the magnitude of inbreeding depression. *Evolutionary Ecology Research* 9, 959-974.
- Wilson, R.I., and Mainen, Z.F. (2006). Early events in olfactory processing. *Annual Review of Neuroscience* 29, 163-201.
- Xia, Q., Zhou, Z., Lu, C., Cheng, D., Dai, F., Li, B., Zhao, P., Zha, X., Cheng, T., Chai, C., *et al.* (2004). A draft sequence for the genome of the domesticated silkworm (*Bombyx mori*). *Science* 306, 1937-1940.
- Xu, P., Atkinson, R., Jones, D.N.M., and Smith, D.P. (2005). *Drosophila* OBP LUSH Is Required for Activity of Pheromone-Sensitive Neurons. *Neuron* 45, 193-200.
- Yao, C.A., and Carlson, J.R. (2010). Role of G-proteins in odor-sensing and CO₂-sensing neurons in *Drosophila*. *Journal of Neuroscience* 30, 4562-4572.
- Zacharuk, R.Y. (1985). Antennae and sensilla. In *Comprehensive insect physiology, biochemistry, and pharmacology*, G.A. Kerkut, and L.I. Gilbert, eds. (Pergamon Press, Oxford), pp. 1-69.
- Zavala, J.A., Casteel, C.L., DeLucia, E.H., and Berenbaum, M.R. (2008). Anthropogenic increase in carbon dioxide compromises plant defense against invasive insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 5129-5133.

- Zavaleta, E.S., and Hulvey, K.B. (2004). Realistic species losses disproportionately reduce grassland resistance to biological invaders. *Science* 306, 1175-1177.
- Zhan, S., Merlin, C., Boore, Jeffrey L., and Reppert, Steven M. (2011). The Monarch Butterfly Genome Yields Insights into Long-Distance Migration. *Cell* 147, 1171-1185.
- Zhang, H.J., Anderson, A.R., Trowell, S.C., Luo, A.R., Xiang, Z.H., and Xia, Q.Y. (2011). Topological and functional characterization of an insect gustatory receptor. *PLoS ONE* 6, e24111.
- Zhang, S.-G., Maida, R., and Steinbrecht, R.A. (2001). Immunolocalization of odorant-binding proteins in noctuid moths (Insecta, Lepidoptera). *Chemical Senses* 26, 885-896.
- Zhao, C., Löfstedt, C., and Wang, X. (1990). Sex pheromone biosynthesis in the Asian corn borer *Ostrinia furnacalis* (II): Biosynthesis of (E)- and (Z)-12-tetradecenyl acetate involves $\Delta 14$ desaturation. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 15, 57-65.
- Zhou, J.-J., and Gerald, L. (2010). Odorant-Binding Proteins in Insects. *Vitamins & Hormones* 83, 241-272.

Résumé

Titre : Contribution des sens chimiques à l'adaptation à l'environnement : une étude transcriptomique chez la noctuelle *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera : Noctuidae).

Les sens chimiques – olfaction et gustation - sont déterminants pour un insecte lors du choix de sa plante hôte. Des différences dans le nombre, les séquences ou le taux d'expression des gènes impliqués dans la reconnaissance des signaux chimiques (gènes chimiosensoriels) peuvent donc mener à l'adaptation à une nouvelle plante, comme par exemple une plante cultivée. Nous avons testé cette hypothèse sur un modèle lépidoptère, la noctuelle foreuse de tige *Sesamia nonagrioides*, en tirant profit de l'existence de deux populations trouvées en milieu naturel, l'une s'alimentant sur plante sauvage au Kenya, l'autre dérivant de la première population et inféodée au maïs en France. Notre étude s'est focalisée sur les effets génétiques (deux générations élevées au laboratoire après collecte) et sur la comparaison des taux d'expression des transcriptomes des deux populations. Dans une première étape, nous avons séquencé et annoté le transcriptome chimiosensoriel de *S. nonagrioides*. En particulier, nous avons identifié *de novo* 68 gènes candidats à la chimioréception chez cette espèce, dont 31 gènes codant pour des protéines de liaisons aux odorants et 23 gènes codant pour des récepteurs chimiosensoriels. Dans une deuxième étape, nous avons utilisé une approche RNAseq associée à la bioinformatique pour comparer l'expression du transcriptome entre les deux populations de *S. nonagrioides*. Nous avons mis en évidence un grand nombre de gènes différentiellement exprimés, dont des gènes codant des protéines virales, des cytochromes P450 mais aussi des gènes chimiosensoriels impliqués dans les événements péri-récepteurs de la détection olfactive. Nos résultats suggèrent que les deux populations ont donc une sensibilité olfactive différente, qui aurait pu contribuer à l'adaptation à un nouvel environnement chimique.

Abstract

Title: Contribution of the chemical senses to a new environment: a transcriptomic study in the stemborer *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae).

The chemical senses – olfaction and taste – are crucial for the insect in host selection and recognition. Differences in the numbers, the sequences or the expression level of genes involved in the recognition of chemical signals (called chemosensory genes) can thus drive the adaptation to a new host plant, such as cultivated crops. We have investigated this hypothesis using a Lepidoptera model, the stemborer *Sesamia nonagrioides*, taking advantage of the occurrence of two natural populations, one living on *Typha* in Kenya and another one living on maize in France. We focused our study on the genetic effects (two generations were reared in the laboratory after insect collection) and used expression profiling to compare the transcriptomes of the two populations. First, we sequenced and annotated the chemosensory transcriptome of *S. nonagrioides*. We identified *de novo* 68 candidate chemosensory genes, including 31 genes encoding binding proteins and 23 genes encoding chemosensory receptors. Then, we used a RNAseq approach coupled with bioinformatics to compare gene expression between the two populations. We evidenced a large array of genes up or down regulated, including genes encoding viral proteins, cytochrome P450s and also chemosensory genes putatively involved in the peri-receptor events of olfactory detection. Our results suggest that the two populations could have different olfactory sensitivity to some odorants, which could contribute to the adaptation to a new chemical environment.