

## Implication des réarrangements chromosomiques dans la spéciation en sympatrie

### Contexte général & Problématique de la thèse

Comprendre les mécanismes qui façonnent la diversité des espèces observées est l'une des questions centrales de la biologie évolutive et qui s'avère d'autant plus importante au regard de la crise de la biodiversité que nous connaissons actuellement. Au cours de cette thèse, nous nous intéresserons particulièrement aux **processus impliqués dans la spéciation**, c'est-à-dire à la création d'espèces distinctes à partir d'une population ancestrale. La spéciation peut être favorisée par une séparation géographique, impliquant par exemple des barrières physiques (montagnes, rivières..) provoquant une **divergence progressive des populations isolées** aboutissant à un isolement reproducteur (spéciation allopatrique). Plus récemment, de nombreux cas de spéciation au sein d'une même région géographique (spéciation sympatrique, Coyne 2007) ont été rapportés, impliquant par exemple des spécialisations de différentes populations sur différentes ressources (spéciation écologique, Nosil 2012). Dans le cas de la spéciation **en sympatrie**, les populations étant en contact, des événements de reproduction entre individus de populations différentes peuvent avoir lieu, permettant **des flux de gènes et limitant ainsi la divergence**. Des découvertes récentes montrent que la spéciation peut néanmoins avoir lieu même en présence de flux de gènes, et que le degré de divergence des génomes entre espèces à l'isolement reproducteur avéré peut fortement varier (Roux *et al.* 2016). Ainsi, certaines espèces peuvent avoir une faible divergence génomique et on suppose que l'isolement reproducteur est lié à des régions limitées du génome pouvant créer des **incompatibilités** (appelées incompatibilités de Dobzhansky-Muller) provoquant la mort ou la stérilité des hybrides (e.g. Brideau *et al.* 2006) ou à des régions provoquant des **divergences phénotypiques entre espèces**, rendant les hybrides fortement mal-adaptés (e.g. Merrill *et al.* 2012). Les réarrangements chromosomiques, tels que les fissions, fusions et duplications chromosomiques ou les inversions de portions de chromosomes peuvent également limiter la survie et la reproduction des hybrides (e.g. Stathos & Fishman 2014). Certains réarrangements chromosomiques sont également associés à des divergences de traits entre populations et peuvent ainsi permettre une spéciation écologique (e.g. Twyford & Friedman 2015). **Dans quelle mesure ces processus de réarrangement de génomes favorisent la divergence des traits adaptatifs et créent des barrières au flux de gènes, favorisant ainsi la spéciation en sympatrie ? Quelle est la contribution relative des barrières génétiques et écologiques à l'isolement reproducteur ?**

### Modèle d'étude

Afin d'estimer le rôle des réarrangements chromosomiques dans la spéciation sympatrique, nous utiliserons **des papillons néo-tropicaux du genre *Morpho***. Les Lépidoptères présentent des chromosomes holocentriques, et **les taux de réarrangement chromosomiques** (environ 2 cassures tous les Mb par million d'années) **sont beaucoup plus rapides** que chez les Drosophiles ou que chez les mammifères ou les plantes (d'Alençon *et al.* 2010). Des variations des nombres de chromosomes sont également observées entre espèces de papillons proches, pouvant éventuellement être impliquées dans l'isolement reproducteur (McClure *et al.* 2017). La fréquence importante des variations structurales fait des Lépidoptères un modèle de choix pour étudier l'influence de ces variants dans le processus de spéciation. Nous nous focalisons sur les espèces *Morpho helenor*, *M. achilles* et *M. deidamia* qui sont bien étudiées dans l'équipe de V Llaurens (CR CNRS à l'ISYEB) et pour lesquelles des données préliminaires suggèrent : (1) des flux de gènes limités entre ces espèces sœurs vivant en sympatrie (2) un évitement des femelles hétérospécifiques par les mâles (données en cours de publication) (3) une ségrégation temporelle des espèces en sympatrie. Des caryotypes chez quelques individus suggèrent que *M. helenor* et *M. achilles* auraient un caryotype  $2n = 56$  tandis que *M. deidamia* montrerait  $2n = 52$ , suggérant que des remaniements chromosomiques aient pu avoir lieu au cours des événements de spéciation. Ces papillons représentent ainsi un modèle de choix, pour évaluer le rôle de facteurs génomiques comme écologiques comme barrières aux flux de gènes en sympatrie.

### Méthodologie

#### 1- Histoire démographique

*Morpho helenor*, *M. achilles* et *M. deidamia* sont des espèces vivant en forêt tropicale humide avec une aire de distribution essentiellement Amazonienne, à l'exception de *M. helenor* qui a une aire un

peu plus large au nord, remontant jusqu'au Panama. Grâce à un financement Emergence de la mairie de Paris, nous disposons de données de **séquençage de type RAD-seq** nous permettant d'étudier les variations de séquences à un grand nombre de marqueurs (~30,000) pour des populations du Pérou et de la Guyane Française. Ces données RAD-seq sur ces trois espèces, ainsi que sur une espèce sympatrique plus éloignée (*M. menelaus*) qui servira de groupe externe permettra au. à la. doctorant.e de (1) reconstituer **l'histoire démographique de chacune des espèces** de part et d'autre de l'Amazonie et (2) de tester la **présence de flux de gènes ancien et récent** entre ces espèces vivant en sympatrie. Il.elle pourra ainsi identifier l'origine biogéographique de chacune des espèces et reconstituer l'histoire de leur spéciation. L'application de méthodes d'inférence démographique supposant des flux de gènes hétérogène le long du génome lui permettra ensuite d'identifier des régions génomiques 'barrière' où les flux de gènes sont limités. Ces régions 'barrière' sont potentiellement impliquées dans des traits adaptatifs divergents entre espèces où dans des incompatibilités, et pourraient ainsi être impliquées dans le processus de spéciation.

## 2- Identification des réarrangements chromosomiques

Le.la doctorant.e combinera ces données de génomique des populations à un **séquençage long-fragment** (type Nanopore) sur des échantillons de Guyane Française grâce au même financement. Nous bénéficions d'une collaboration sur place (M. Chouteau CR CNRS, LEEISA), nous permettant de réaliser des extractions d'ADN sur spécimens frais, limitant la fragmentation de l'ADN. Il.elle réalisera un génome de référence pour chacune des trois espèces focales (*Morpho helenor*, *M. achilles* et *M. deidamia*). Ces génomes de référence seront ensuite utilisés pour identifier les blocs de synténie conservés entre les différentes espèces, ce qui permettra ainsi de reconstruire l'histoire des réarrangements chromosomique qui a façonné les génomes actuel et d'**identifier les variants structuraux entre espèces**. Si l'assemblage des génomes de référence se révèle de faible qualité, de nouveaux outils permettant d'identifier des variants structuraux à partir d'assemblages complets de génomes seront utilisés (e.g. (Goel et al. 2019)).

Les régions 'barrière' identifiées précédemment seront cartographiées sur les génomes de références et le.la doctorant.e testera dans quelle mesure elles se situent dans des régions où il existe des variations structurales entre espèces.

## 3- Facteurs écologiques impliqués dans l'isolement reproducteur

Des données de **capture/marquage/recapture** obtenues sur le terrain dans les populations péruvienne et guyanaise nous montrent que les mâles des trois espèces qui patrouillent dans les mêmes habitats à la recherche de femelle le font à des heures différentes. Cette **ségrégation temporelle pourrait ainsi fortement limiter des croisements inter-spécifiques** et favoriser la spéciation en sympatrie. Le.la doctorant.e pourra répéter le même protocole de capture/marquage/recapture au Panama où l'espèce *M. helenor* n'est pas en sympatrie avec *M. achilles* et *M. deidamia*. Il.elle pourra ainsi tester si les heures de vol de *M. helenor* sont les mêmes qu'en situation de sympatrie, ou si la présence d'autres espèces modifie ce comportement. Ceci nous renseignera sur le **rôle de la ségrégation temporelle dans le processus de spéciation en sympatrie**. Nous testerons également les variations génétiques entre espèces dans les **gènes impliqués dans l'horloge circadienne** dans les trois espèces, afin de tester s'ils appartiennent à des régions génomiques identifiées précédemment comme barrières. A travers ce cas d'étude, nous estimerons ainsi la contribution relative des facteurs génétiques et écologiques comme barrières aux flux de gènes et leurs liens, dans le processus de spéciation en sympatrie.

## Résultats escomptés et stratégie de publication

Ce projet de thèse à **l'interface entre l'écologie et l'évolution des génomes** combine des approches variées pour proposer des hypothèses nouvelles sur les mécanismes permettant la spéciation en sympatrie, et pourra faire l'objet de publications dans des journaux à haut facteur d'impact. Cependant les trois volets de la thèse reposent sur des jeux de données et des méthodologies différentes ce qui peut également permettre des publications indépendantes et une ré-orientation sur l'un des trois axes en cas de blocage.

## Encadrement de la thèse & Faisabilité

La thèse sera encadrée par V. Llaurens (ISYEB), dont les recherches se focalisent sur l'évolution des

motifs de couleurs chez les papillons neo-tropicaux et leur rôle dans les choix de partenaires et par I. Lafontaine (IBPC), bioinformaticienne, spécialiste de l'évolution des génomes. La combinaison de ces deux disciplines permettra d'apporter un éclairage nouveau sur les processus neutres et sélectifs impliqués dans la spéciation en sympatrie, mais repose sur leurs expertises spécifiques. Les expériences respectives des encadrantes en génomique des populations (Nadeau *et al.* 2016; Jay *et al.* in prep.) et en bioinformatique (Gillet-Markowska *et al.* 2015b; Vakirlis *et al.* 2016) assureront un soutien méthodologique à l'étudiant.e. L'expérience de terrain de V. Llaurens (Arias *et al.* 2016a; Chouteau *et al.* 2017) permettra également un bon déroulement de l'axe 3 du projet. Le séquençage sera réalisé en 2020 afin que l'étudiant.e dispose du jeu de données dès le démarrage de sa thèse, assurant un bon déroulé de la thèse en 3 ans. V Llaurens a déjà co-encadré deux, qui déjà ont donné lieu à 5 publications pour M. Arias (Arias *et al.* 2016a; Arias *et al.* 2016b; Arias *et al.* 2016c; Chouteau *et al.* 2016; Arias *et al.* in press.) et une pour O. Sculfort (Sculfort *et al.* in press). I. Lafontaine a déjà dirigé une thèse (soutenue au bout de 3 ans), qui a donné lieu à deux publications pour N. Vakirlis (Vakirlis *et al.* 2016, 2018) et a co-encadré une thèse qui a donné lieu à 4 publications pour A. Gillet-Markowska (Louvel *et al.* 2014; Gillet-Markowska *et al.* 2015b, 2015a; Vakirlis *et al.* 2018).

## Références

- Arias M, Joron M, Davey J, Jiggins C, Llaurens V (in press.) Predator generalization of warning signals in different prey communities? Insights from a videogame played by the general public. *Proceedings of the Royal Society B*.
- Arias M, Le Poul Y, Boisseau R, *et al.* (2016a) Crossing fitness valleys: empirical estimation of adaptive landscape associated with polymorphic mimicry. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* **283**
- Arias M, Mappes J, Théry M, Llaurens V (2016b) Inter-species variation in unpalatability does not explain polymorphism in *Heliconius numata*. *Evolutionary Ecology*, published online.
- Arias M, Meichanetzoglou A, Elias M, *et al.* (2016c) Variation in cyanogenic compounds concentration within a *Heliconius* butterfly community: does mimicry explain everything? *BMC evolutionary biology* **16**, 272.
- Brideau NJ, Flores HA, Wang J, *et al.* (2006) Two Dobzhansky-Muller genes interact to cause hybrid lethality in *Drosophila*. *Science* **314**, 1292-1295.
- Chouteau M, Arias M, Joron M (2016) Warning signals are under positive frequency-dependent selection in nature. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **113**, 2164-2169.
- Chouteau M, Llaurens V, Piron-Prunier F, Joron M (2017) Polymorphism at a mimicry supergene maintained by opposing frequency-dependent selection pressures. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **114**, 8325-8329.
- Coyne JA (2007) Sympatric speciation. *Current Biology* **17**, R787-R788.
- d'Alencon E, Sezutsu H, Legeai F, *et al.* (2010) Extensive synteny conservation of holocentric chromosomes in Lepidoptera despite high rates of local genome rearrangements. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**, 7680-7685.
- Gillet-Markowska A, Louvel G, Fischer G. 2015a. bz-rates: A Web Tool to Estimate Mutation Rates from Fluctuation Analysis. *G3 Bethesda Md* **5**: 2323–2327.
- Gillet-Markowska A, Richard H, Fischer G, Lafontaine I. 2015b. Ulysses: accurate detection of low-frequency structural variations in large insert-size sequencing libraries. *Bioinforma Oxf Engl* **31**: 801–808.
- Goel M, Sun H, Jiao W-B, Schneeberger K. 2019. SyRI: finding genomic rearrangements and local sequence differences from whole-genome assemblies. *Genome Biol* **20**: 277
- Jay P, Chouteau M, Whibley A, *et al.* (in prep.) Mutation accumulation in chromosomal inversions maintains wing pattern polymorphism in a butterfly. bioRxiv, 736504.
- McClure M, Dutrillaux B, Dutrillaux A-M, Lukhtanov V, Elias M (2017) Heterozygosity and chain multivalents during meiosis illustrate ongoing evolution as a result of multiple holokinetic chromosome fusions in the genus *Melinaea* (Lepidoptera, Nymphalidae). *Cytogenetic and genome research* **153**, 213-222.
- Merrill RM, Wallbank RWR, Bull V, *et al.* (2012) Disruptive ecological selection on a mating cue. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* **279**, 4907-4913.
- Nadeau NJ, Pardo-Diaz C, Whibley A, *et al.* (2016) The gene cortex controls mimicry and crypsis in butterflies and moths. *Nature* **534**, 106-110.
- Nosil P (2012) *Ecological speciation* Oxford University Press.
- Roux C, Fraisse C, Romiguier J, *et al.* (2016) Shedding light on the grey zone of speciation along a continuum of genomic divergence. *Plos Biology* **14**, e2000234.
- Sculfort O, de Castro ECP, Kozak KM, *et al.* (in press) Variation of chemical compounds in wild *Heliconiini* reveals ecological and historical contributions to the evolution of chemical defences in mimetic butterflies. *Ecology and Evolution*.
- Stathos A, Fishman L (2014) Chromosomal rearrangements directly cause underdominant F1 pollen sterility in *Mimulus lewisii*-*Mimulus cardinalis* hybrids. *Evolution* **68**, 3109-3119.
- Twyford AD, Friedman J (2015) Adaptive divergence in the monkey flower *Mimulus guttatus* is maintained by a chromosomal inversion. *Evolution* **69**, 1476-1486.
- Louvel H, Gillet-Markowska A, Liti G, Fischer G. 2014. A set of genetically diverged *Saccharomyces cerevisiae* strains with markerless deletions of multiple auxotrophic genes. *Yeast Chichester Engl* **31**: 91–101.
- Vakirlis N, Hebert AS, Opulente DA, Achaz G, Hittinger CT, Fischer G, Coon JJ, Lafontaine I. 2018. A Molecular Portrait of De Novo Genes in Yeasts. *Mol Biol Evol* **35**: 631–645.
- Vakirlis N, Sarilar V, Drillon G, Fleiss A, Agier N, Meyniel J-P, Blanpain L, Carbone A, Devillers H, Dubois K, *et al.* 2016. Reconstruction of ancestral chromosome architecture and gene repertoire reveals principles of genome evolution in a model yeast genus. *Genome Res* **26**: 918–932.