Etude pluridisciplinaire du phénomène de saut d’harmoniques chez les grillons Lebinthini, une innovation clef à l’interface entre génomique comparative et analyse physico-chimique

Contexte

A l’échelle des organismes, les innovations clef sont des innovations évolutives qui permettent d’expliquer le succès de lignées entières sur des périodes s’étalant parfois sur plusieurs dizaines de millions d’années (Heard & Hauser 1995, Hunter 1998). Or, si de nombreuses innovations clef sont identifiées à travers le vivant, il est rare que l’on connaisse davantage que leur origine phylogénétique : bien souvent, on ignore les mécanismes qui sous-tendent ces l’apparition de ces traits et l’explication de leur succès évolutif, tant sur le plan génétique que biomécanique, physiologique ou physico-chimique. Pour parvenir à ce degré de compréhension, les innovations clef ont besoin d’être étudiées à l’aide d’études comparatives conduites conjointement à différentes échelles et en utilisant des approches pluridisciplinaires et expérimentales. Des études de génomique comparative dans un contexte phylogénétique précis sont ainsi nécessaires pour appréhender l’origine des innovations clef en identifiant les mécanismes se produisant à l’échelle moléculaire d’une part. D’autre part les études mécanistiques sont importantes pour explorer à quel degré les traits innovants confèrent de nouvelles capacités fonctionnelles aux lignées qui les portent par rapport à l’état ancestral.

En acoustique, les fréquences harmoniques existent naturellement dans la plupart des signaux de communication produits par les animaux (Fletcher, 1992). Il s’agit par définition de fréquences ayant pour valeur des multiples entiers de la fréquence fondamentale du signal acoustique. Les sauts d’harmoniques sont des phénomènes acoustiques non linéaires bien connus des musiciens, puisqu’ils correspondent au passage d’une octave à une autre : ils consistent à modifier la fréquence d’un son en passant d’un harmonique à un autre plutôt que de manière progressive et linéaire. Dans le vivant, il existe plusieurs exemples de transpositions des sauts d’harmoniques, chez des oiseaux (Clark 2014), des mammifères (chauves-souris ; Kingston & Rossiter 2004) et des insectes (Robillard et al. 2007). Ainsi, bien que rares, les sauts d’harmoniques constituent des innovations évolutives de premier ordre pour les clades concernés, car ils entraînent des bouleversements de la biologie des espèces en affectant considérablement les signaux acoustiques avec lesquels les animaux interagissent entre eux et avec leur environnement. Sur le plan évolutif, les sauts d’harmoniques constituent de rares exemples d’évolution saltatoire (i.e., non linéaire) de signaux de communication (Robillard et al. 2013 ; Tan et al. 2021).

Les grillons Lebinthini (sous-famille Eneopterinae) sont reconnus pour leur utilisation d’un système de communication original qui repose en premier lieu sur l’acquisition d’une innovation clef correspondant à des chants émis à hautes fréquences (ter Hofstede et al. 2015, Benavides et al. 2020). Ces signaux de communication innovants peuvent être émis en raison de la capacité des ailes des mâles de ces espèces à amplifier une des fréquences harmoniques du spectre acoustique généré par la stridulation. Les études phylogénétiques suggèrent que le phénomène de saut d’harmoniques serait l’innovation clef qui a conduit à la diversification explosive de ces grillons et de leurs modes de communication. Des études récentes de morphométrie géométrique et de modélisation numérique par la méthode des éléments finis (thèse en cours) indiquent que ces sauts d’harmoniques seraient liés la fois à des modifications de la géométrie 3D du résonateur et des propriétés élastiques des matériaux qui constituent les ailes de ces grillons. La façon dont ces modifications structurales se traduisent dans la réalité d’un point de vue physico-chimique, de même que la manière dont elles se sont mises en place d’un point de vue génétique/moléculaire, sont deux aspects qui restent entièrement inexplorés.

Objectif scientifique

Le projet se replace dans le cadre d’un programme de recherche pluridisciplinaire visant à comprendre l’origine de chant de grillons à hautes fréquences acquis par le phénomène de saut d’harmoniques. La thèse vise à ajouter une double dimension à l’étude : une dimension génétique via une approche de transcriptomique comparative, couplée à une dimension physico-chimique pour appréhender les mécanismes évolutifs à l’origine de cette innovation évolutive.

Le premier objectif consistera à étudier la nature des modifications physico-chimiques des matériaux composant les ailes de plusieurs espèces appartenant aux principales lignées présentant des sauts d’harmoniques.

En parallèle, le second objectif consistera à étudier les bases génétiques de ces modifications par une approche de génomique comparative visant à identifier les gènes impliqués via une étude de transcriptomique des bourgeons alaires mâles et femelles.

Justification de l'approche scientifique

Grâce aux inférences phylogénétiques préalablement conduites chez les grillons Eneopterinae, on connaît précisément les positions phylogénétiques et les configurations bioacoustiques correspondant aux sauts d'harmoniques, en particulier chez la tribu Lebinthini.

Pour comprendre les sauts d'harmoniques multiples observés et les transitions évolutives morpho-fonctionnelles sous-jacentes, il est nécessaire de comprendre à la fois les modifications subies par les matériaux constituant la membrane des ailes servant de résonateur et les modifications génétiques qui en sont responsable. Ces deux volets du projet seront menés sur les mêmes espèces cibles (5 à 10) afin de conserver un lien étroit entre les différentes conclusions.

Le volet physico-chimique et fonctionnel utilisera des approches modernes d'imagerie 3D pour caractériser la composition (notamment chitine vs résiline) et l'ultrastructure interne des ailes, et des méthodes expérimentales pour mesurer leurs propriétés élastiques (tâche ISYEB-MECADEV). Ce volet permettra d'expliquer les propriétés élastiques particulières des ailes des Lebinthini, en testant si les modifications constatées relèvent de la composition du matériau lui-même (taux de résiline vs chitine), à la structuration fine du matériau (architecture 3D, couches superposées), ou les deux. Ce résultat est un élément clef pour guider la recherche de gènes candidats pour le volet génomique, mais aussi pour alimenter les modèles morpho-fonctionnels disponibles.

Le volet génomique s'appuiera sur une étude pilote de transcriptomique des bourgeons alaires de chaque sexe, obtenus pour cinq espèces cibles de la thèse. L'analyse des transcriptomes et la recherche de gènes candidats pour expliquer les modifications physico-chimiques s'appuieront sur deux génomes complets (*Teleogryllus oceanicus* (Gryllinae), annoté par l'équipe de N. Bailey, et *Lebinthus luae* (Lebinthini), en cours de séquençage). Ce volet permettra d'identifier les gènes impliqués dans les transitions vers les sauts d'harmoniques et leur niveau d'expression durant le développement de l'aile (tâche Univ. St Andrews-ISYEB).

A plus long terme, l'intégration des résultats des deux volets permettra de lancer les bases pour comprendre les mécanismes génétiques et fonctionnels impliqués dans l'origine des structures de production du son chez l'ensemble des insectes Ensifères (tâche conjointe ISYEB-MECADEV-Univ St Andrews).

Rôle de chaque encadrant et compétences scientifiques apportées

Pour comprendre la diversité du vivant, il est nécessaire de comprendre l'origine du succès évolutif des lignées à travers le prisme de différentes disciplines et à différentes échelles de temps.

Ce sujet propose de décrypter une innovation clef de nature bioacoustique en comparant des espèces ayant divergé depuis plusieurs dizaines de millions d'année, et étudiant les mécanismes de production du son sous deux angles jamais envisagés conjointement à une échelle macroévolutive : le projet propose en effet de faire dialoguer études morpho-fonctionnelles et physico-chimiques des matériaux constituant le résonateur acoustique des ailes des grillons, tout en cherchant dans les génomes des espèces les mécanismes moléculaires à l'origine de ces innovations.

TR (ISYEB) étudie l'évolution de la communication acoustique chez les grillons Eneopterinae avec des approches pluridisciplinaires. Il assurera 50% de l'encadrement avec pour rôle de coordonner l'intégration entre les deux thématiques, participer à l'échantillonnage et l'analyse des données et replacer les résultats dans une perspective phylogénétique.

NB (Univ. St Andrews) est spécialiste de la génomique comparative chez les grillons. Il assurera 25% de l'encadrement autour des questions de transcriptomique et de génomique évolutive.

RB (MECADEV) est spécialiste des approches morpho-fonctionnelles et des études de biomécanique. Il assurera 25% de l'encadrement avec un focus sur la partie physico-chimique du projet.

Verrous

Le projet propose de transposer des mécanismes génétiques microévolutifs (différences de niveau d'expression des gènes et différences de composition physico-chimique des ailes) à l'échelle macro-évolutive, un changement d'échelle temporelle qui est toujours un challenge à réaliser. Nous

tirerons parti des connaissances génomiques sur *Teleogryllus oceanicus* (Bailey lab) en les extrapolant à la sous-famille Eneopterinae, dont les quelque 300 espèces sont donc un excellent clade modèle pour évaluer si les changements génomiques qui sous-tendent la modification des ailes sont également impliqués dans les transitions macro-évolutives du chant, et notamment des fréquences produites.

Faisabilité, risques

La diversité acoustique et morphologique du groupe étudié sont maîtrisées, les relations phylogénétiques acquises et le matériel d'analyse est disponible (spécimens de collection, données acoustiques, logiciel de modélisation, souches vivantes de 15 espèces de grillons pour analyses ultrastructurales et vibrométriques). De même, une partie des données de génomique ont été acquises dans le cadre d'une étude préliminaire portant sur le transcriptome allaire de 4 espèces, et deux génomes de référence sont disponibles, celui de *Teleogryllus oceanicus*, précisément annoté par l'équipe de N. Bailey (Pascoal et al. 2020), et celui de *Lebinthus laue* (Lebinthini), en cours d'annotation en collaboration entre NB et TR. Ainsi, hormis les verrous existants, les risques sont peu prononcés.

Profil recherché.

La personne recherchée devra avoir une première expérience en génomique évolutive (transcriptomique) et dans l'étude des structures et mécanismes de production du son chez les insectes Orthoptères et connaître les principes et méthodes des analyses phylogénétiques comparatives.

Littérature citée [en gras, issue de nos équipes, encadrants en gras/italique]

- Benavides-Lopez, J. L.**, ter Hofstede, H., & **Robillard, T.** (2020). Novel system of communication in crickets originated at the same time as bat echolocation and includes male-male multimodal communication. *The Science of Nature*, 107(1), 9. <https://doi.org/10.1007/s00114-020-1666-1>
- Boistel, R.**, Aubin, T., Cloetens, P., Peyrin, F., Scotti, T., Herzog, P., Pollet, N. & Aubry, J. F. (2013). How minute sooglossid frogs hear without a middle ear. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(38), 15360-15364. <https://doi.org/10.1073/pnas.1302218110>
- Clark, C.J. (2014) Harmonic Hopping, and Both Punctuated and Gradual Evolution of Acoustic Characters in *Selasphorus* Hummingbird Tail-Feathers. *PLoS One* 9.
- Fletcher, N.H. (1992) *Acoustic systems in biology*. Oxford University Press, New York, 333 pp.
- Heard, S. B. & Hauser, D. L. Key evolutionary innovations and their ecological mechanisms. *Hist. Biol.* 10, 151–173 (1995).
- Hunter, J. P. Key innovations and the ecology of macroevolution. *Trends Ecol. Evol.* 13, 31–36 (1998).
- Kingston, T. & Rossiter, S.J. (2004) Harmonic-hopping in Wallacea's bats. *Nature* 429, 654–657.
- Robillard, T.**, Grandcolas, P. & Desutter-Grandcolas, L. (2007) A shift toward harmonics for high-frequency calling shown with phylogenetic study of frequency spectra in Eneopterinae crickets (Orthoptera, Grylloidea, Eneopteridae). *Canadian Journal of Zoology* 85, 1264–1275.
- Pascoal, S., Risse, J.E., Zhang, X., Blaxter, M., Cezard, T., Challis, R.J., Gharbi, K., Hunt, J., Kumar, S., Langan, E., Liu, X., Rayner, J.G., Ritchie, M.G., Snoek, B.L., Trivedi, U. and Bailey, N.W. (2020), Field cricket genome reveals the footprint of recent, abrupt adaptation in the wild. *Evolution Letters*, 4: 19-33. <https://doi.org/10.1002/evl3.148>
- Tan, M. K.**, **Malem, J.**, Legendre, F., **Dong, J.**, **Baroga-Barbecho, J. B.**, Yap, S. A., Wahab, R. bin H. A., Japir, R., Chung, A. Y. C., & **Robillard, T.** (2021). Phylogeny, systematics and evolution of calling songs of the Lebinthini crickets (Orthoptera, Grylloidea, Eneopterinae), with description of two new genera. *Systematic Entomology*, 46(4), 1060–1087. <https://doi.org/10.1111/syen.12510>
- Zhang X.**, **Rayner JG**, Blaxter M, **Bailey N. W.** (2021) Rapid parallel adaptation despite gene flow in silent crickets. *Nature Communications* 12 (1), 50. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20263-4>
- ter Hofstede, H. M., Schöneich, S., **Robillard, T***, & Hedwig, B* (2015). Evolution of a Communication System by Sensory Exploitation of Startle Behavior. *Current Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.10.064>