

# **Rôle de la pigmentation des drosophilidés dans l'adaptation aux variations de température**

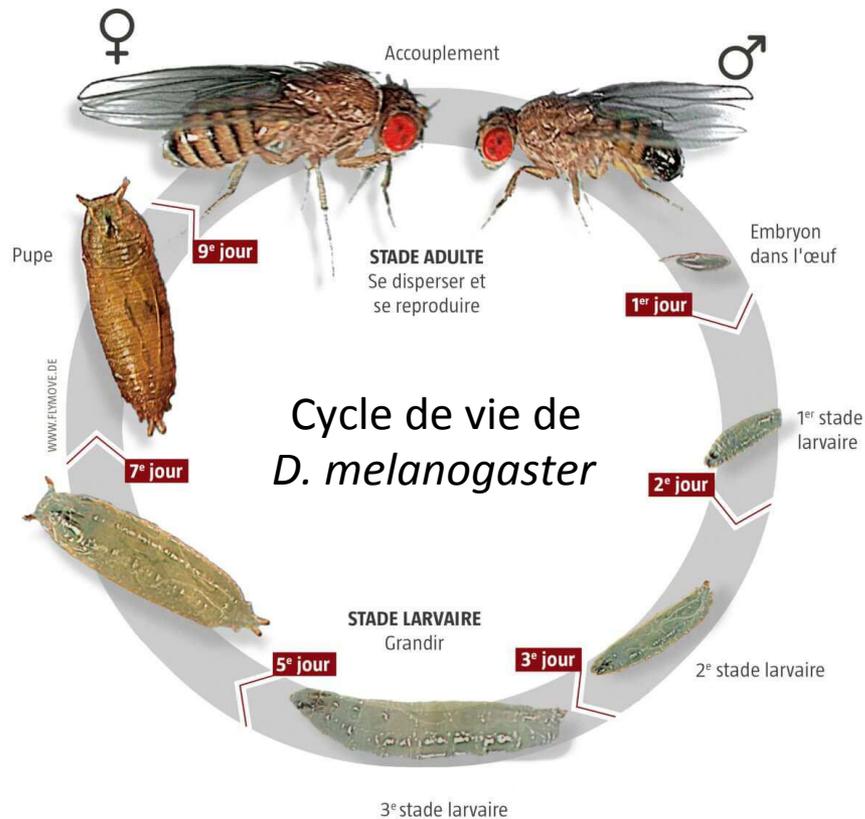
Jean-Michel Gibert

Equipe « Contrôle épigénétique de l'homéostasie et de la plasticité du développement »  
Laboratoire de Biologie du Développement, UMR7622, CNRS-Sorbonne Université, IBPS

# Les drosophilidés

Famille de petits diptères, vieille de 30-50 Ma.

Plus de 4400 espèces dont l'espèce modèle *Drosophila melanogaster*.



## La pigmentation chez les drosophilidés est liée à de nombreux traits:

- fécondité, longévité
- hydrocarbures cuticulaires
- résistance à la dessiccation
- résistance au parasitisme
- résistance aux pathogènes
- protection contre les UV
- thermorégulation



N. Gompel

(Bastide *et al.*, 2014; Dombeck & Jaenike, 2004; Gibert *et al.*, 2000; Kutch *et al.*, 2014; Massey *et al.*, 2019; Parkash *et al.*, 2009; Rajpurohit *et al.*, 2016)

**Test direct du rôle de la pigmentation  
sur le réchauffement des mouches**

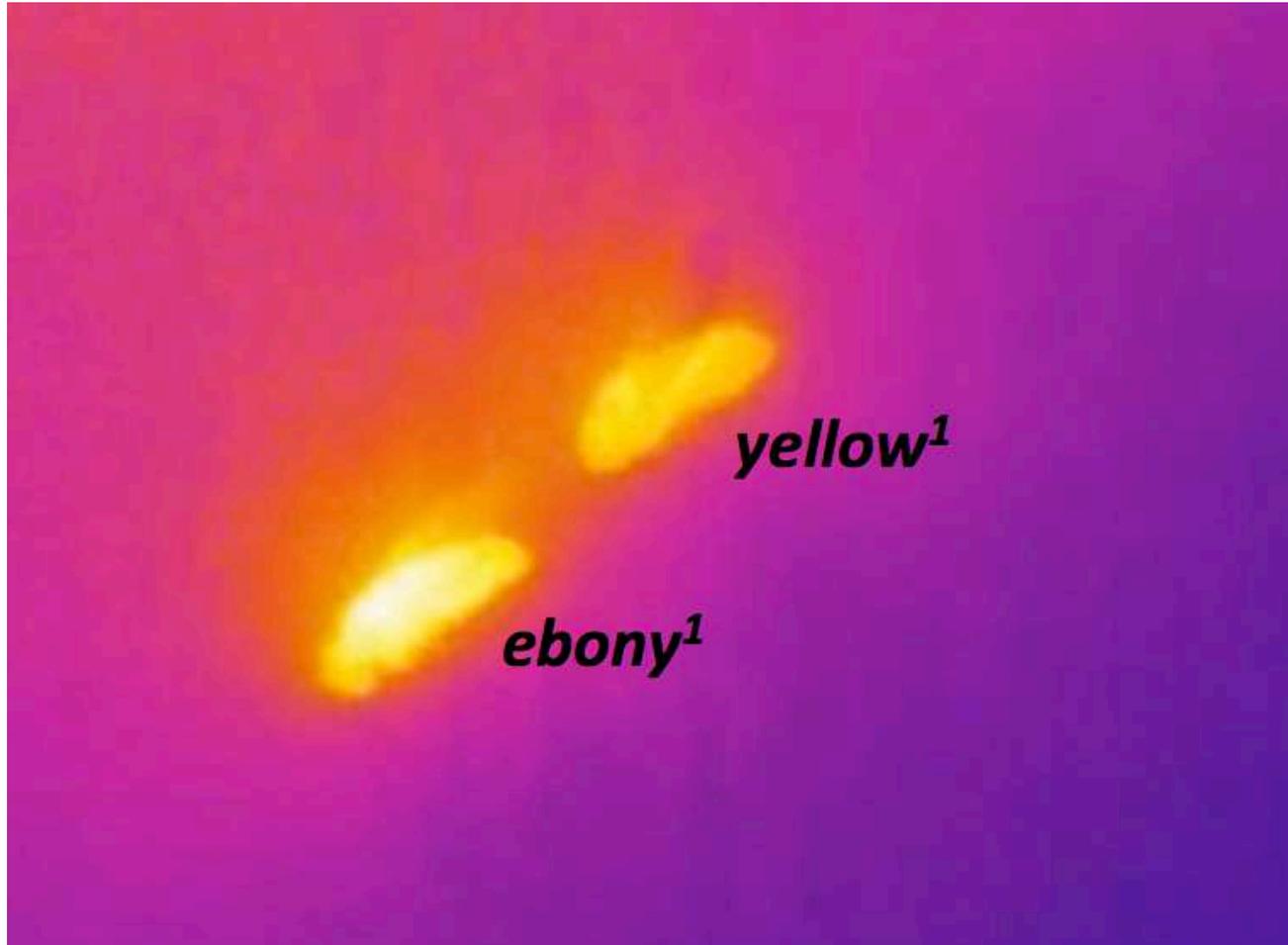


*ebony<sup>1</sup>*

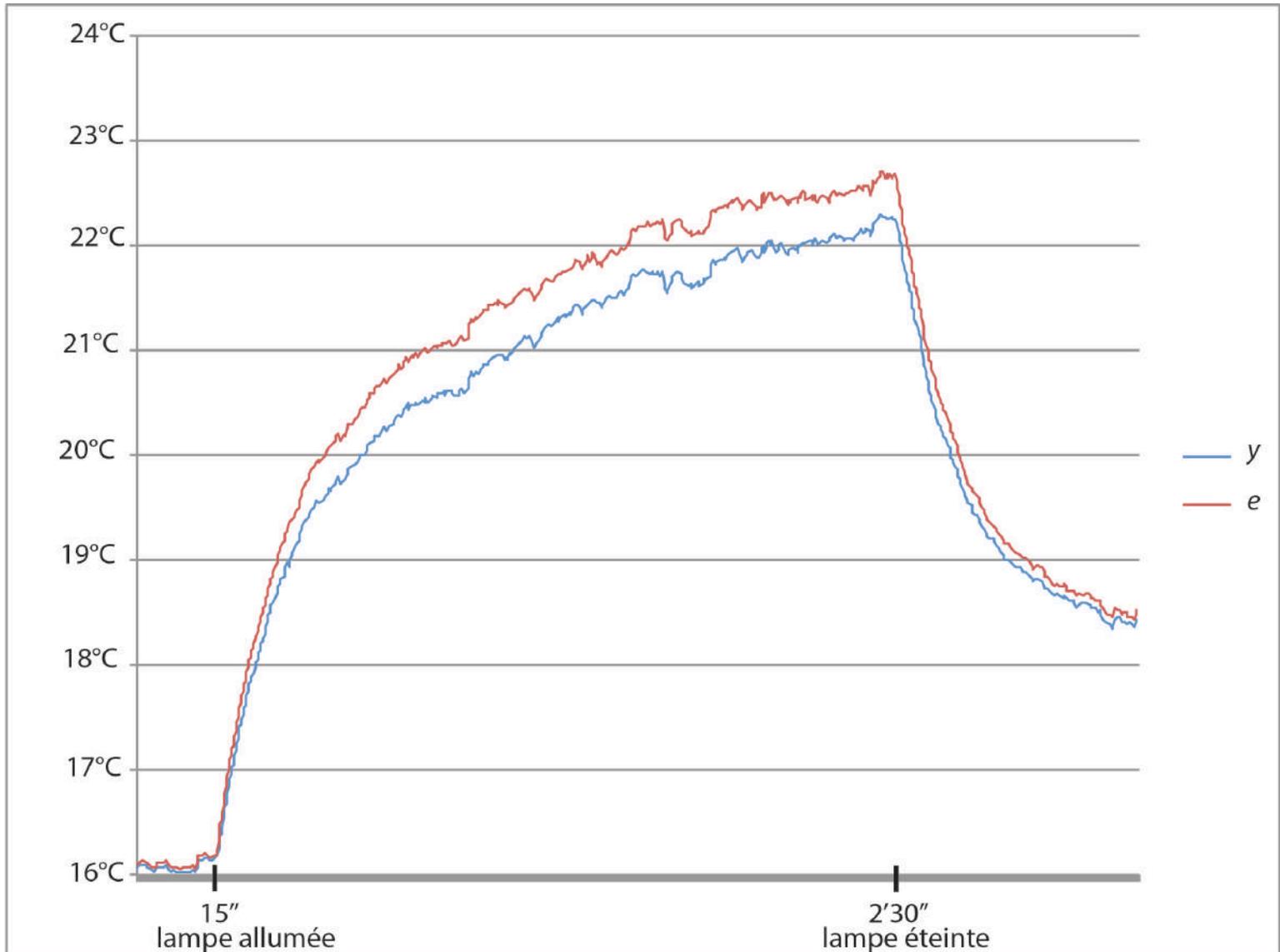


*yellow<sup>1</sup>*

Suivi de la température du corps des mouches *ebony* et *yellow*  
avec une caméra thermique



# Variation de la température du corps des drosophiles *ebony* et *yellow* au cours de l'expérience



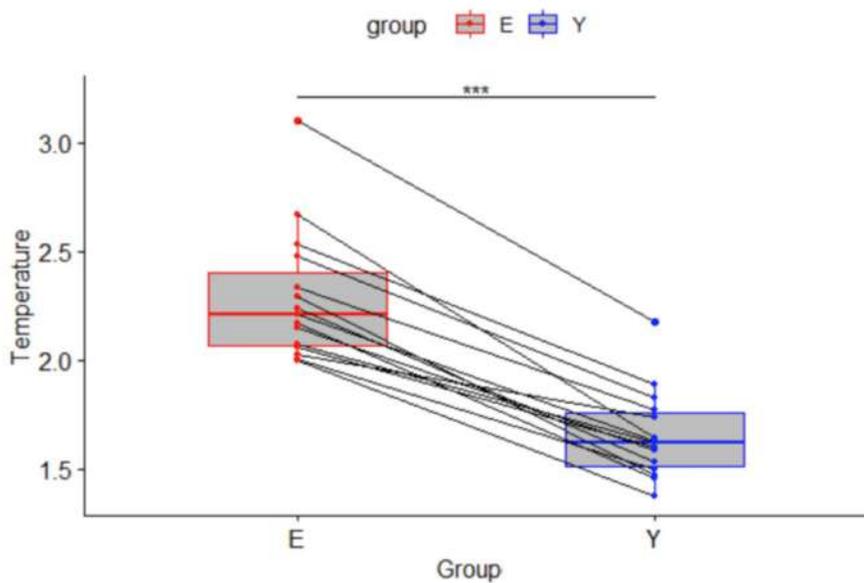
*Drosophila melanogaster*

*ebony*<sup>1</sup>

*yellow*<sup>1</sup>



b Wilcoxon test,  $V = 120$ ,  $p = 0.00072$ ,  $n = 15$



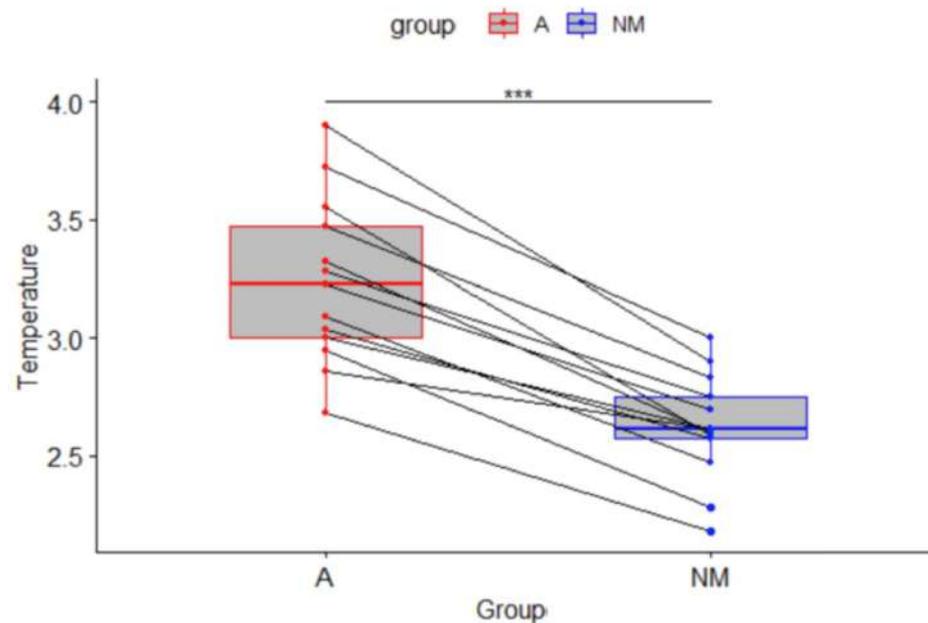
Différence de température:  $0.63 \pm 0.19$  °C

*D. americana*

*D. novamexicana*



b Wilcoxon test,  $V = 91$ ,  $p = 0.00024$ ,  $n = 13$



$0.61 \pm 0.21$  °C

*D. yakuba*

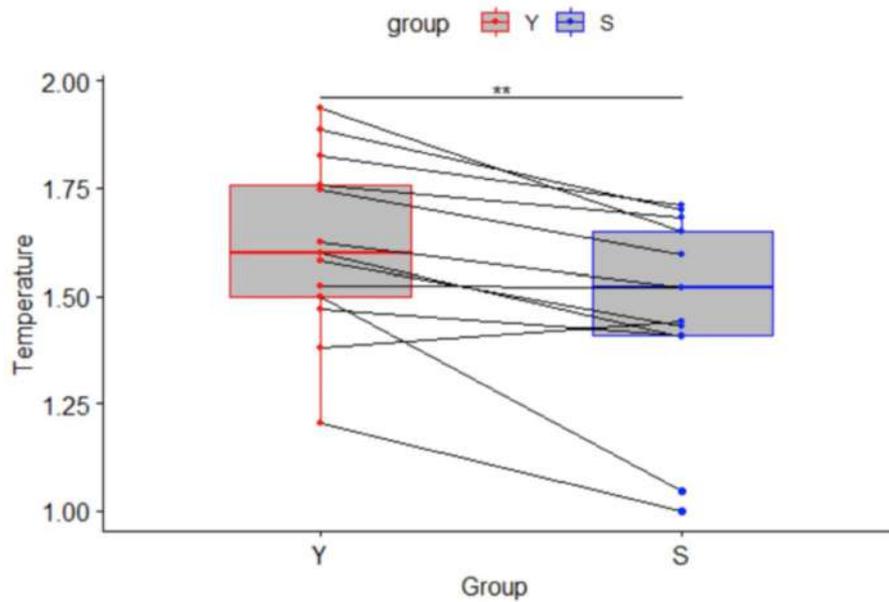
*D. santomea*

a



b

Wilcoxon test,  $V = 3$ ,  $p = 0.0012$ ,  $n = 13$



Différence de température:  $0.15 \pm 0.13$  °C

*Drosophila melanogaster*

Dark

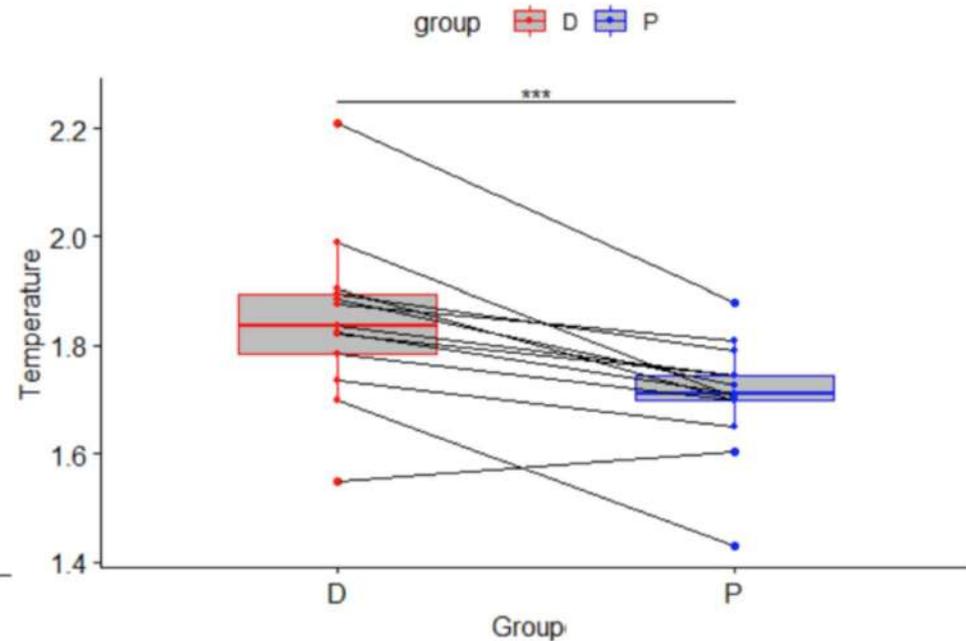
Pale

a



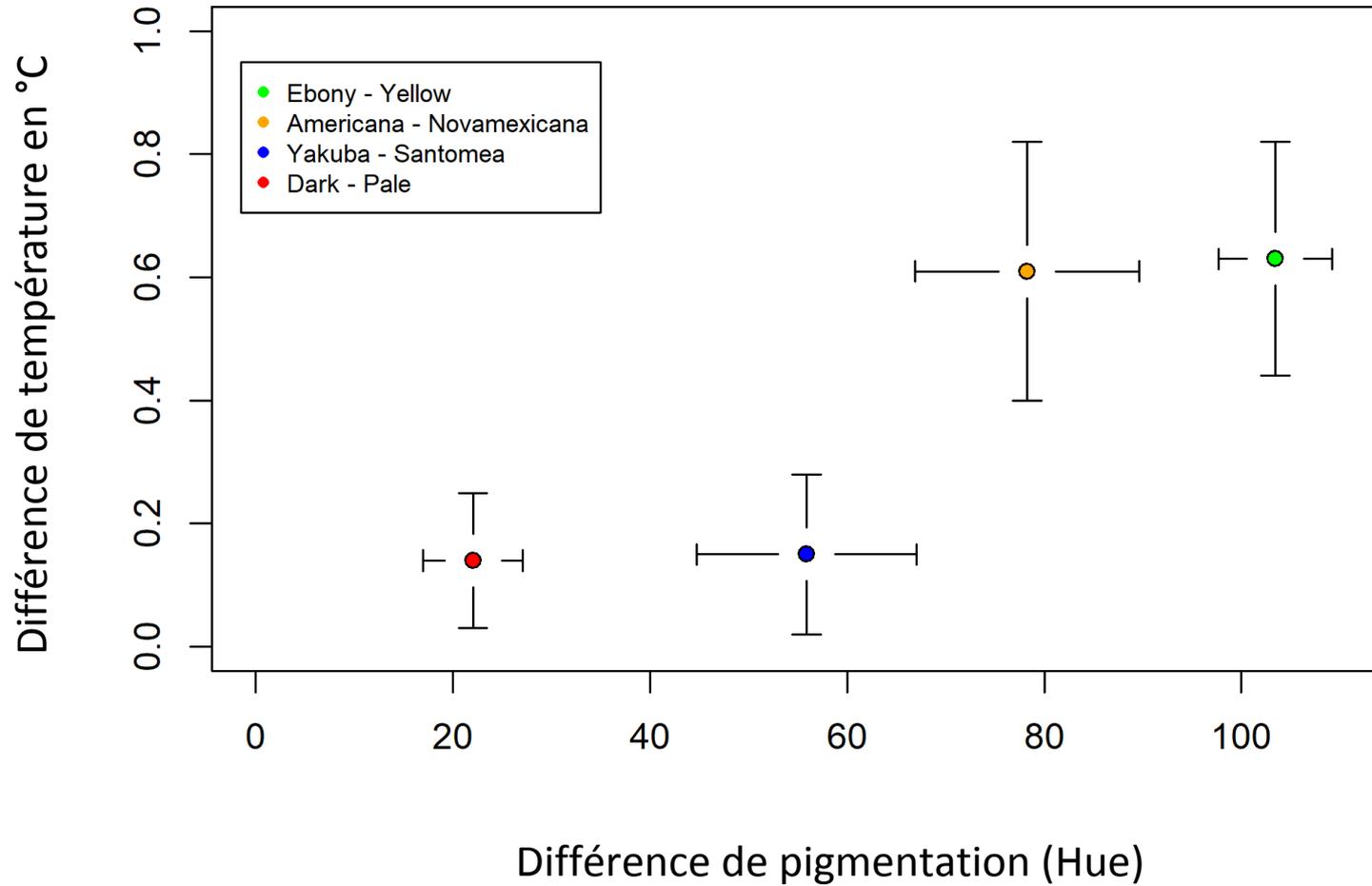
b

Wilcoxon test,  $V = 90$ ,  $p = 0.00049$ ,  $n = 13$



$0.14 \pm 0.11$  °C

# La différence de température est liée à la différence de pigmentation



## **Pigmentation et adaptation à la température**

L'analyse des populations naturelles de drosophiles montre que la pigmentation est génétiquement variable dans la nature (Pool & Aquadro, 2007; Bastide et al., et al., 2013; Dembeck et al., 2015).

Cette variation génétique est elle impliquée dans l'adaptation aux variations spatiales et temporelles de la température et dans quels gènes réside-t-elle?

Les analyses en condition de température contrôlée au laboratoire montrent que la pigmentation est modulée par la température pendant le développement (Plasticité phénotypique) (Gibert P et al., 2000).

Quels gènes impliqués dans la pigmentation sont modulés par la température et à quels mécanismes cette modulation est elle associée?

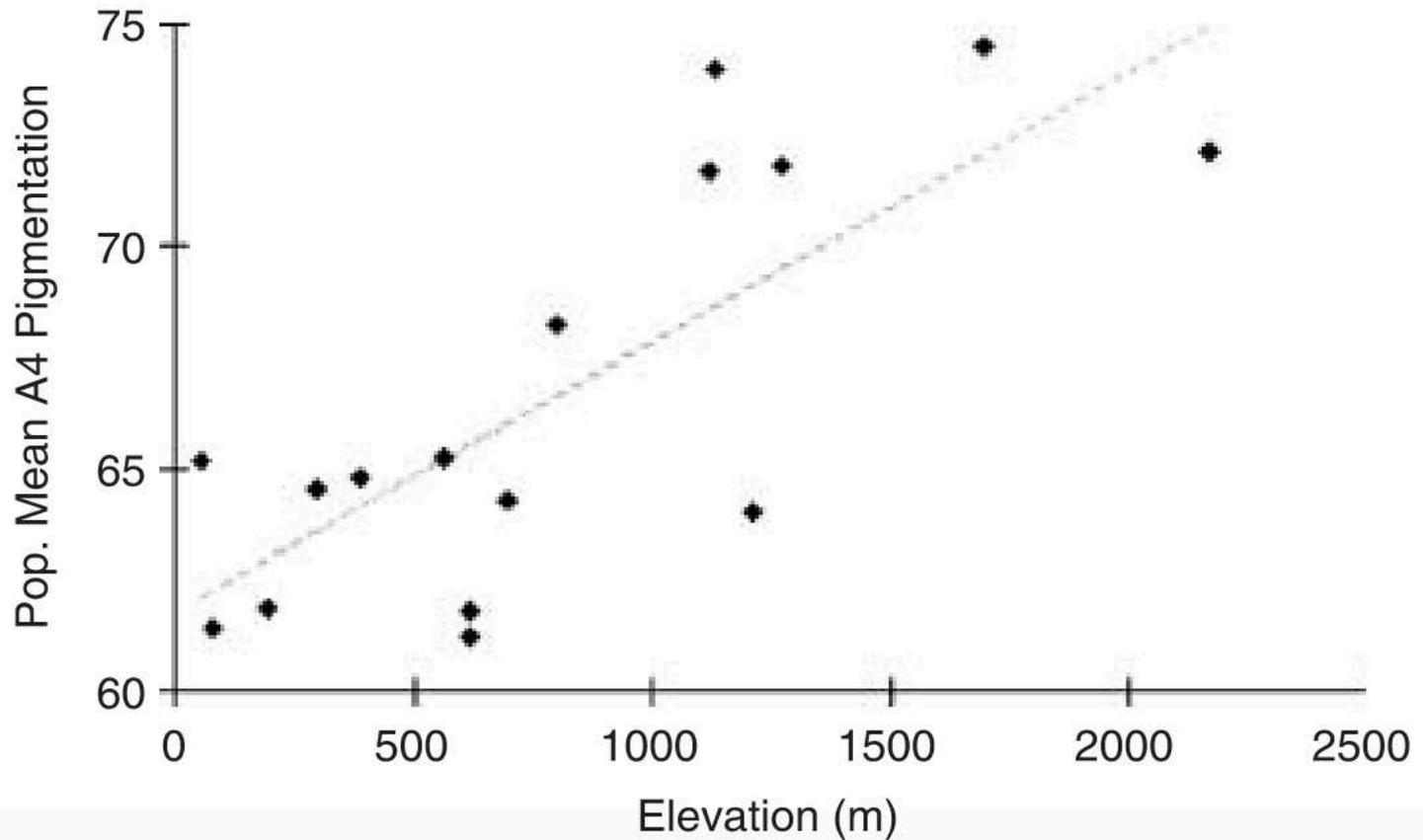
## Variation de pigmentation avec l'altitude en Afrique



Phénotypes de pigmentation observés dans les populations africaines de *D. melanogaster*

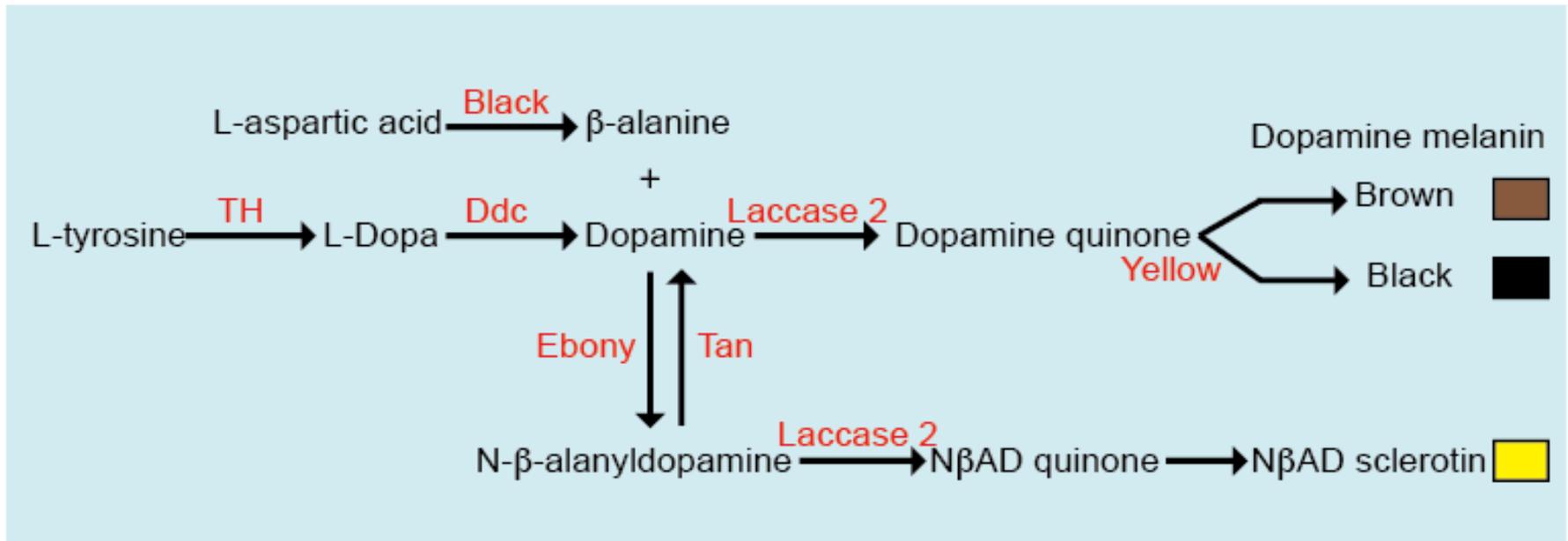
(Pool & Aquadro, 2007)

## Variation de la pigmentation abdominale avec l'altitude



(Pool & Aquadro, 2007)

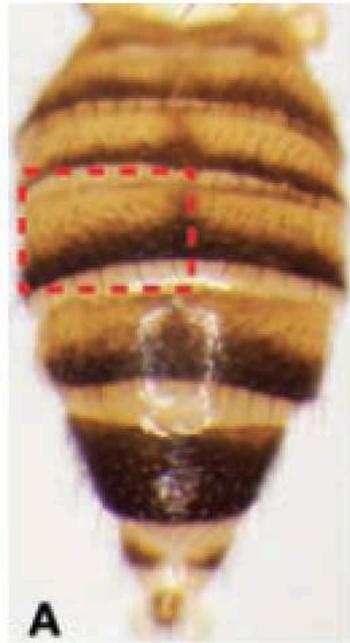
## Voie de synthèse des pigments de la cuticule



D'après Riedel *et al.* (2011)

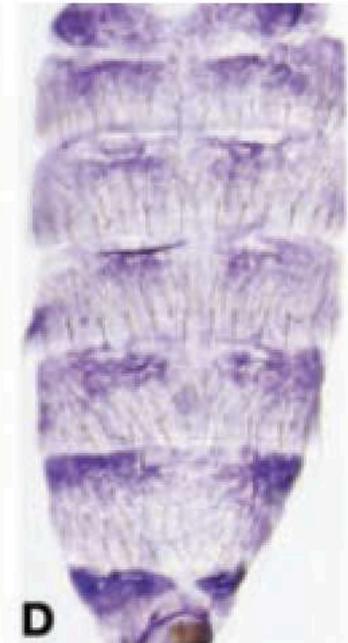
# L'expression d'*ebony* est corrélée avec les phénotypes de pigmentation

Lignée U53



mRNA *ebony*

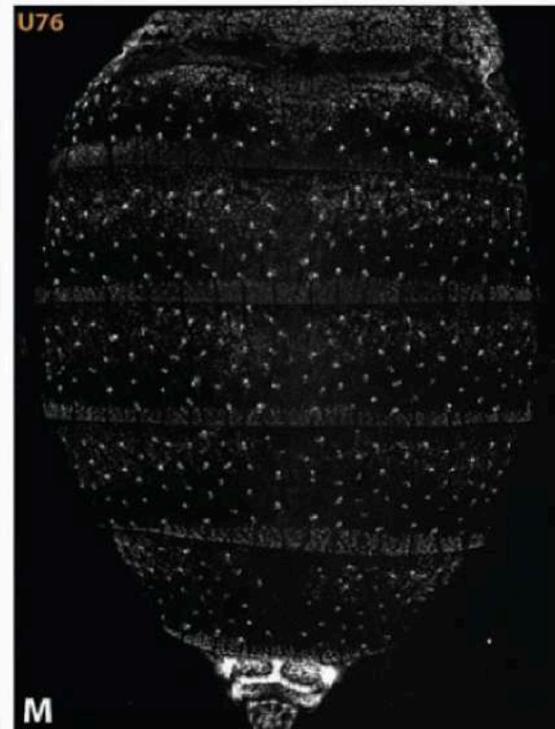
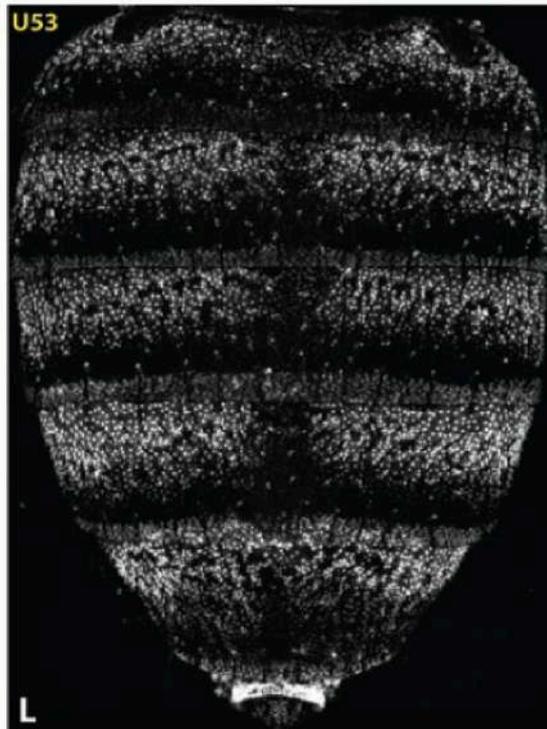
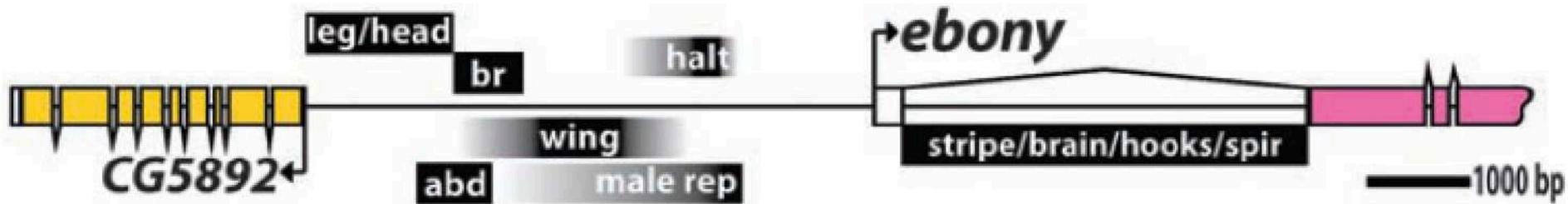
Lignée U76



mRNA *ebony*

(Rebeiz *et al.*, 2009)

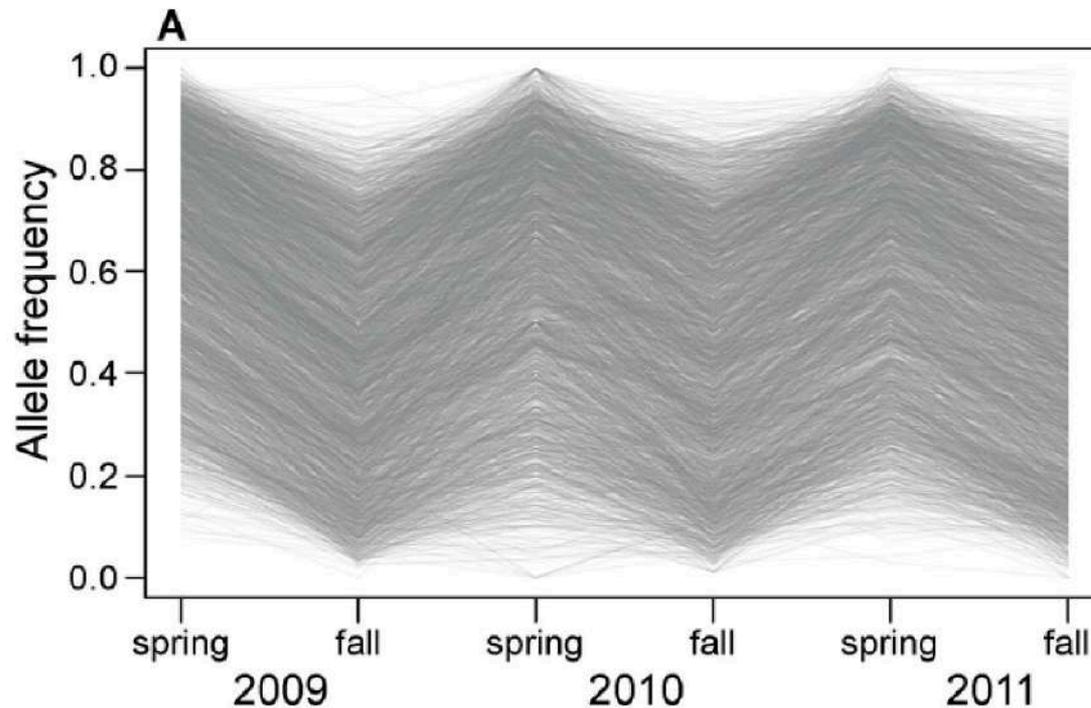
Les différences d'expression d'*ebony* sont dues à des changements dans les séquences *cis-régulatrices*



(Rebeiz *et al.*, 2009)

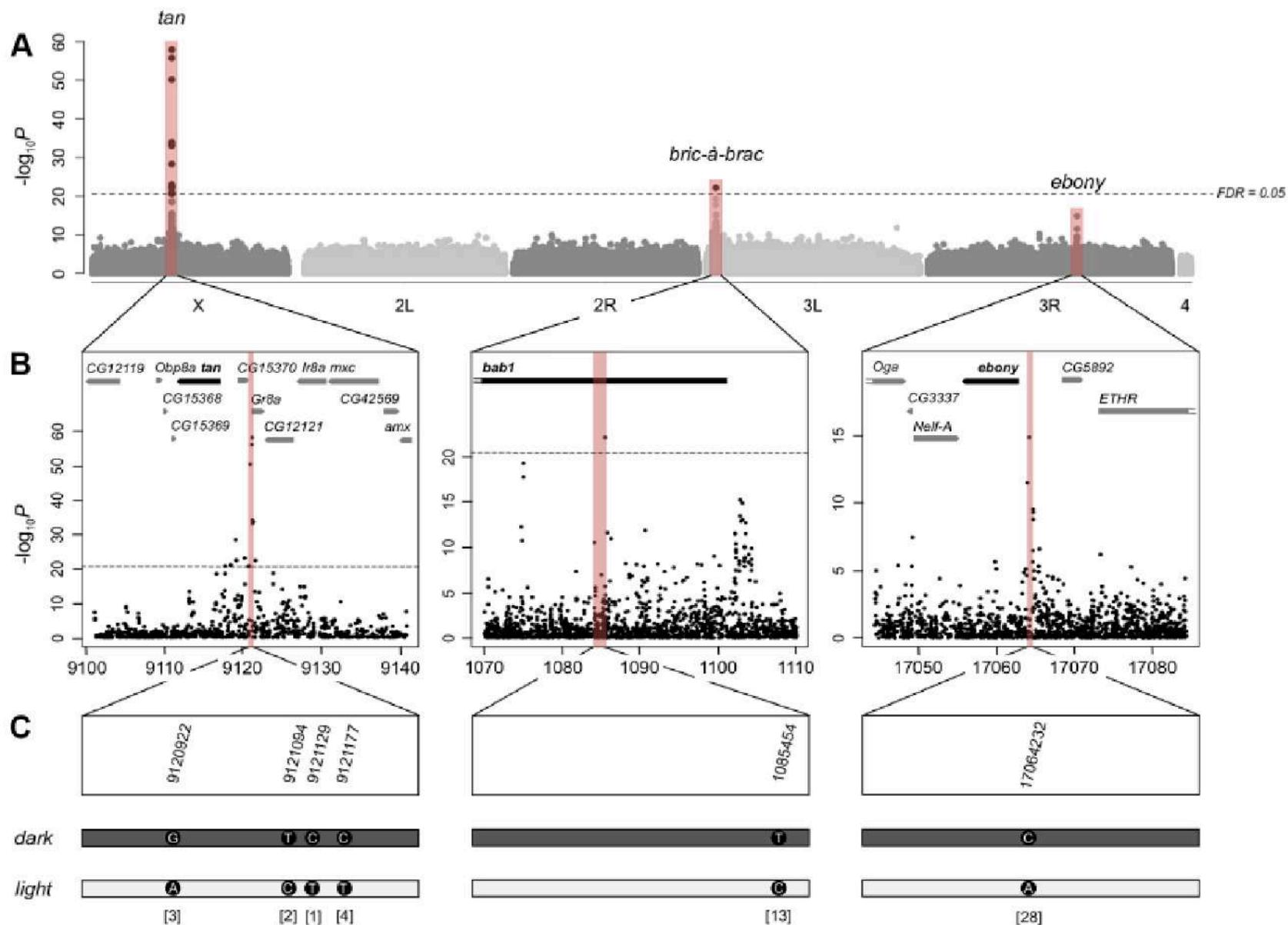
## Fluctuations saisonnières et variation génétique

Les fluctuations saisonnières maintiennent de la variation génétique au sein des populations de drosophiles (Bergland et al., 2014).



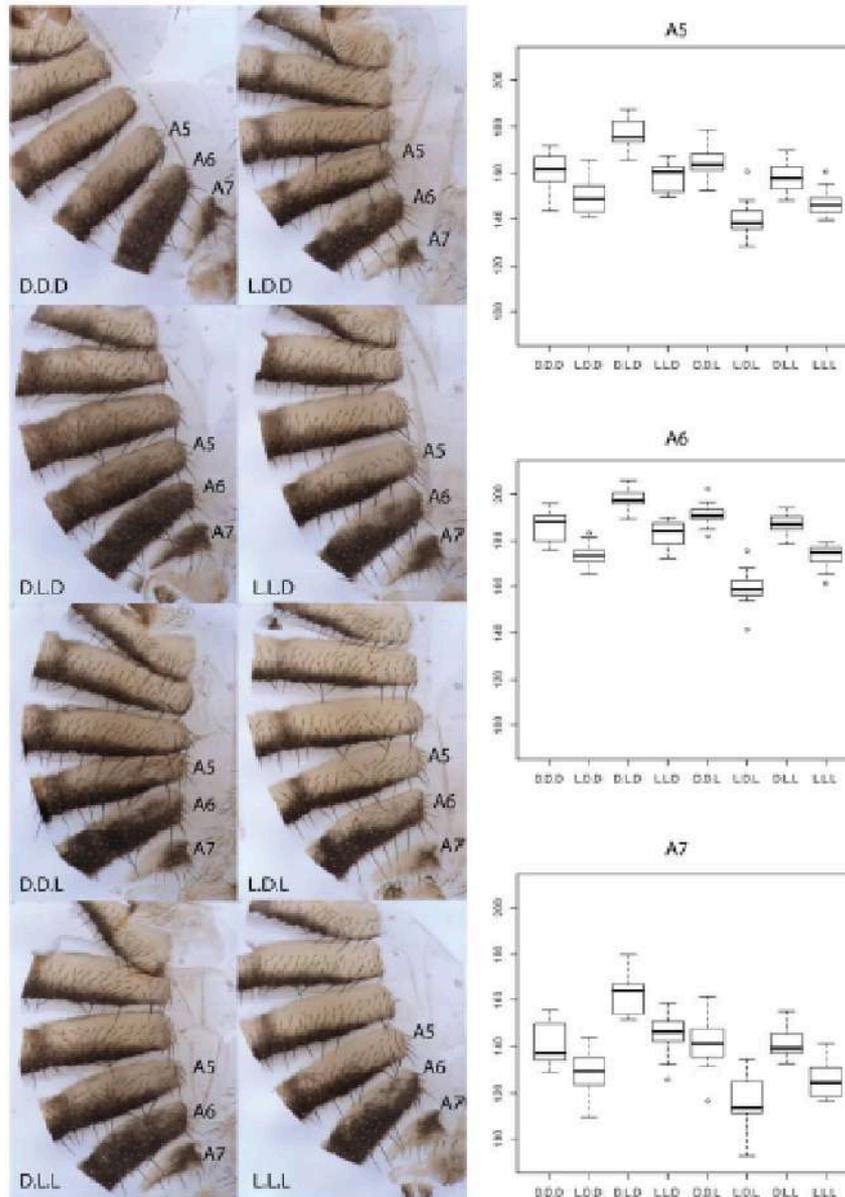
(Bergland *et al.*, 2014)

# Bases génétiques des variations de pigmentation de *D. melanogaster* en Europe



(Bastide *et al.*, 2013)

# Confirmation de l'impact fonctionnel des trois SNPs les plus significatifs

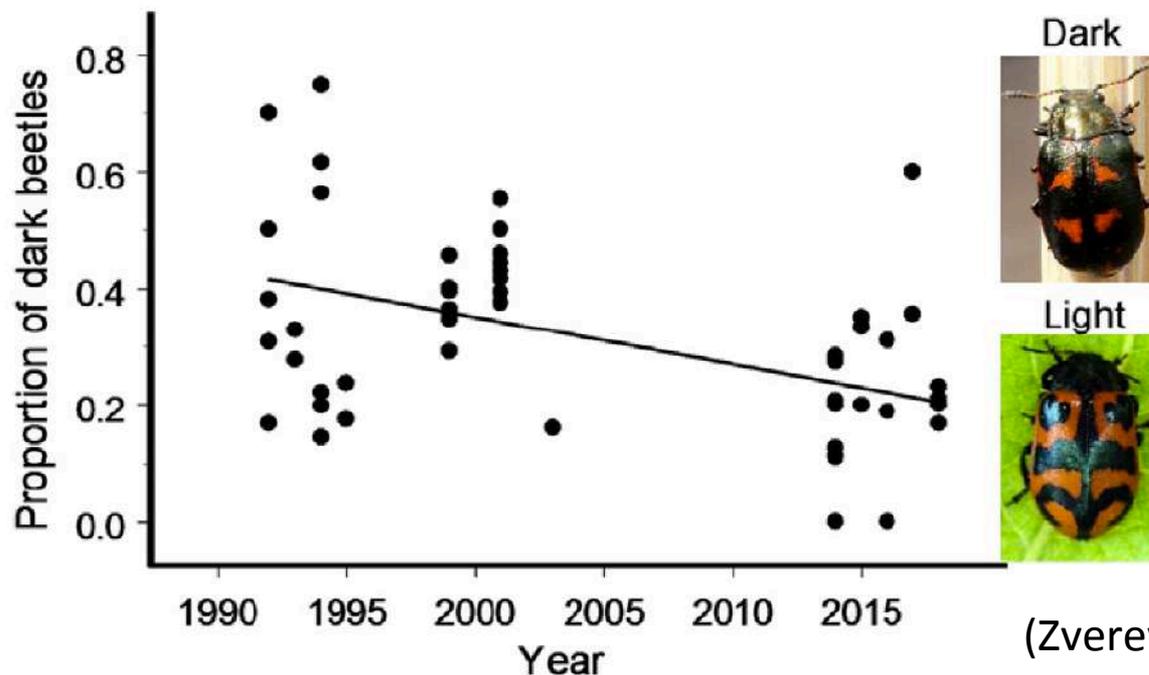


(Gibert, Blanco *et al.*, 2017)

## Réchauffement climatique et pigmentation

La variation génétique (inversions chromosomiques) a répondu au réchauffement climatique chez certaines espèces de drosophiles (Balanya et al., 2006), mais aucun effet sur la pigmentation n'a été démontré pour le moment.

En revanche, chez d'autres espèces d'insectes (lépidoptères, odonates, coléoptères), le réchauffement climatique a eu un effet sur de la variation génétique affectant la pigmentation (Brakefield & de Jong, 2011; Zeuss et al., 2014; Zvereva et al., 2019)



# Mécanismes impliqués dans la plasticité thermique de la pigmentation chez la drosophile

18°C

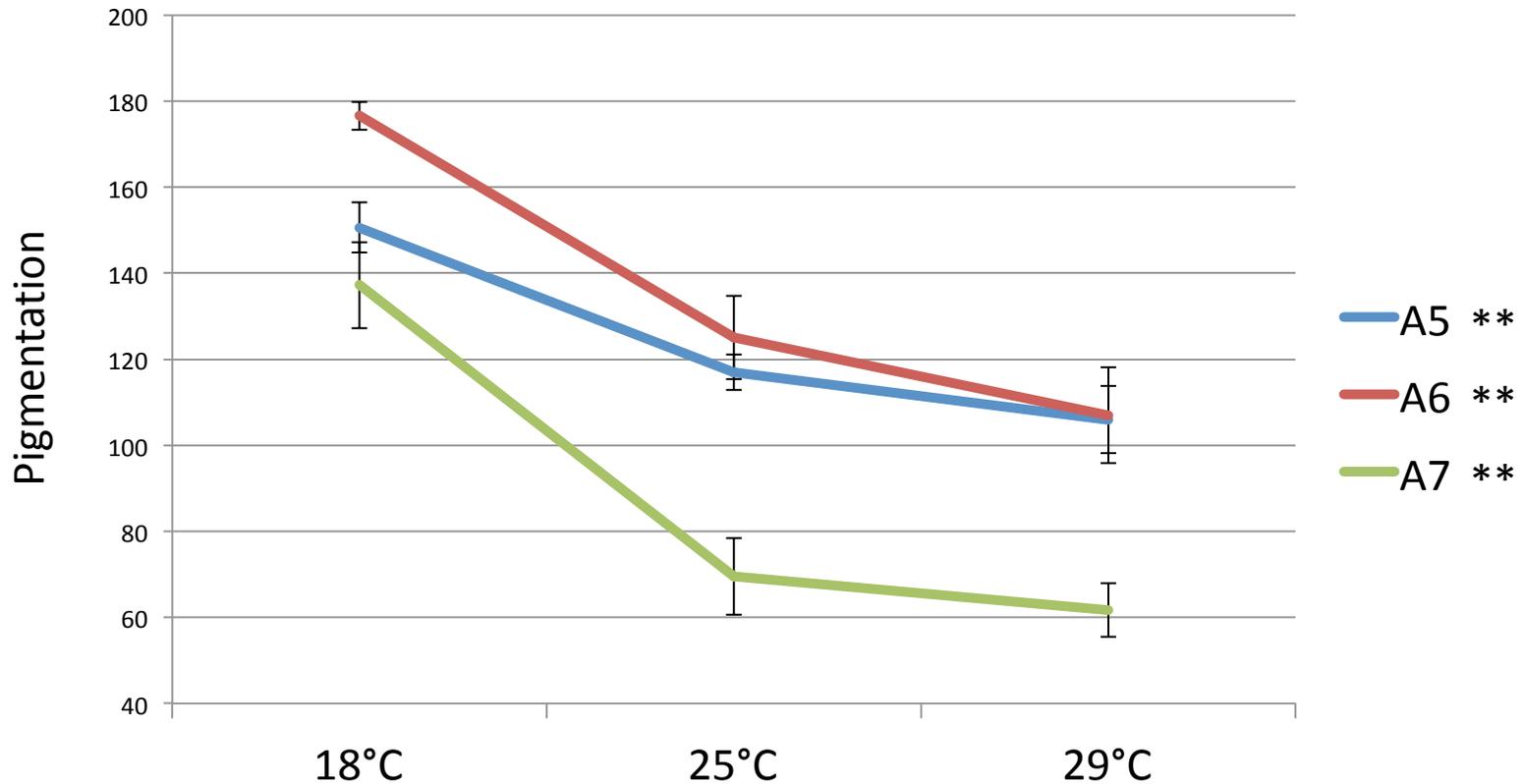
25°C

29°C



*Drosophila melanogaster*, lignée isogénique  $w^{1118}$

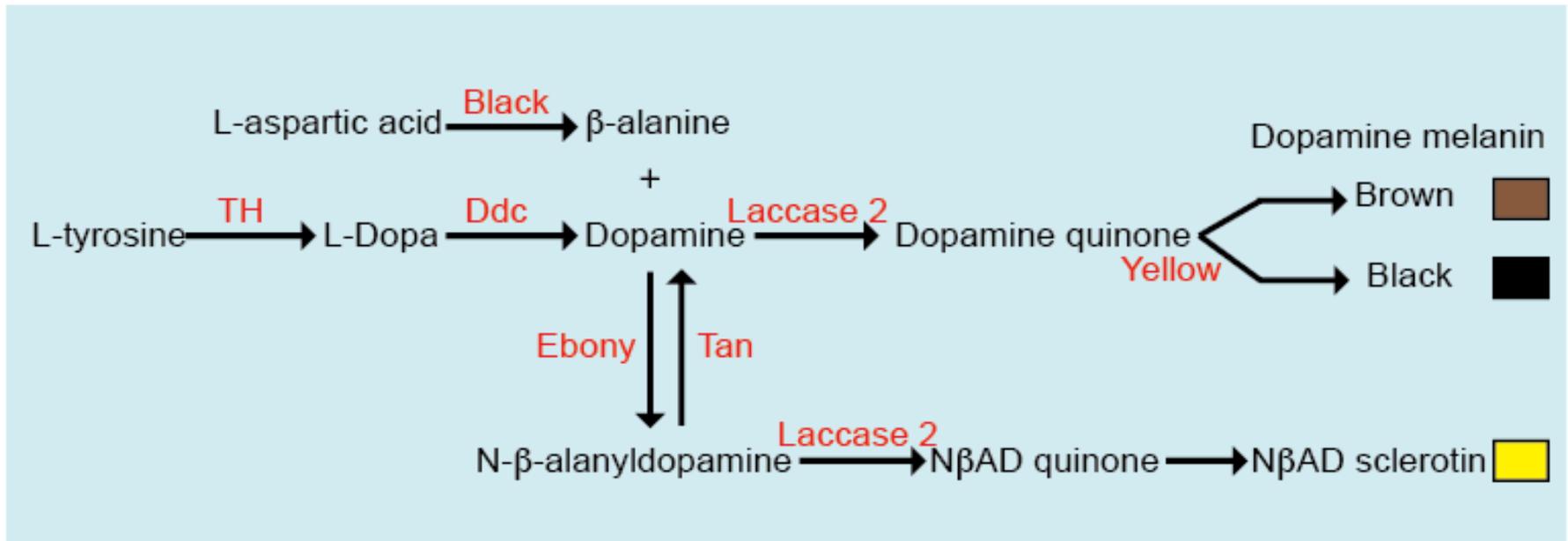
# Normes de réaction pour la pigmentation abdominale femelle



Quantification de la pigmentation des cuticules (ImageJ).

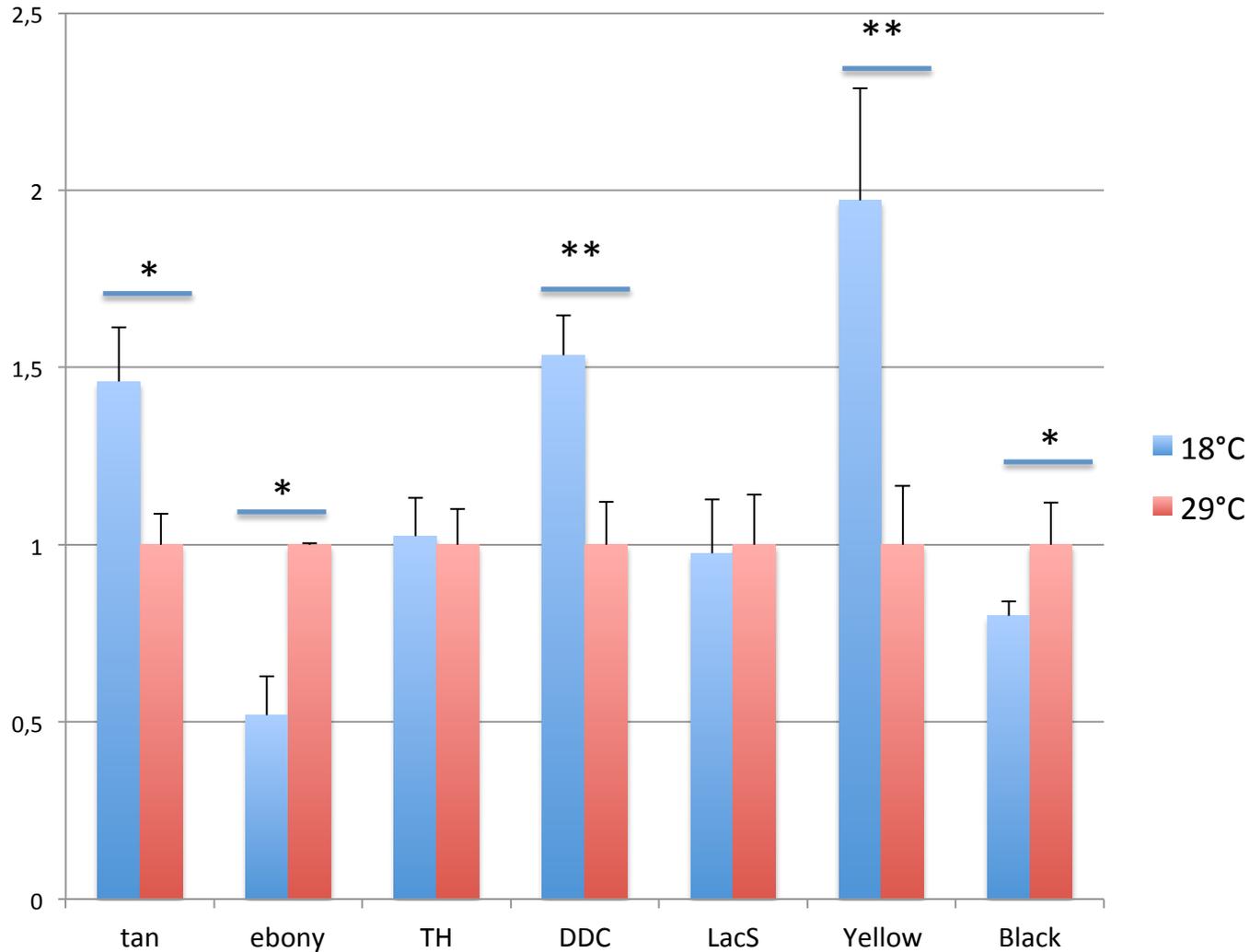
(Gibert, Mouchel-Vielh *et al.*, 2016)

## Voie de synthèse des pigments de la cuticule



D'après Riedel *et al.* (2011)

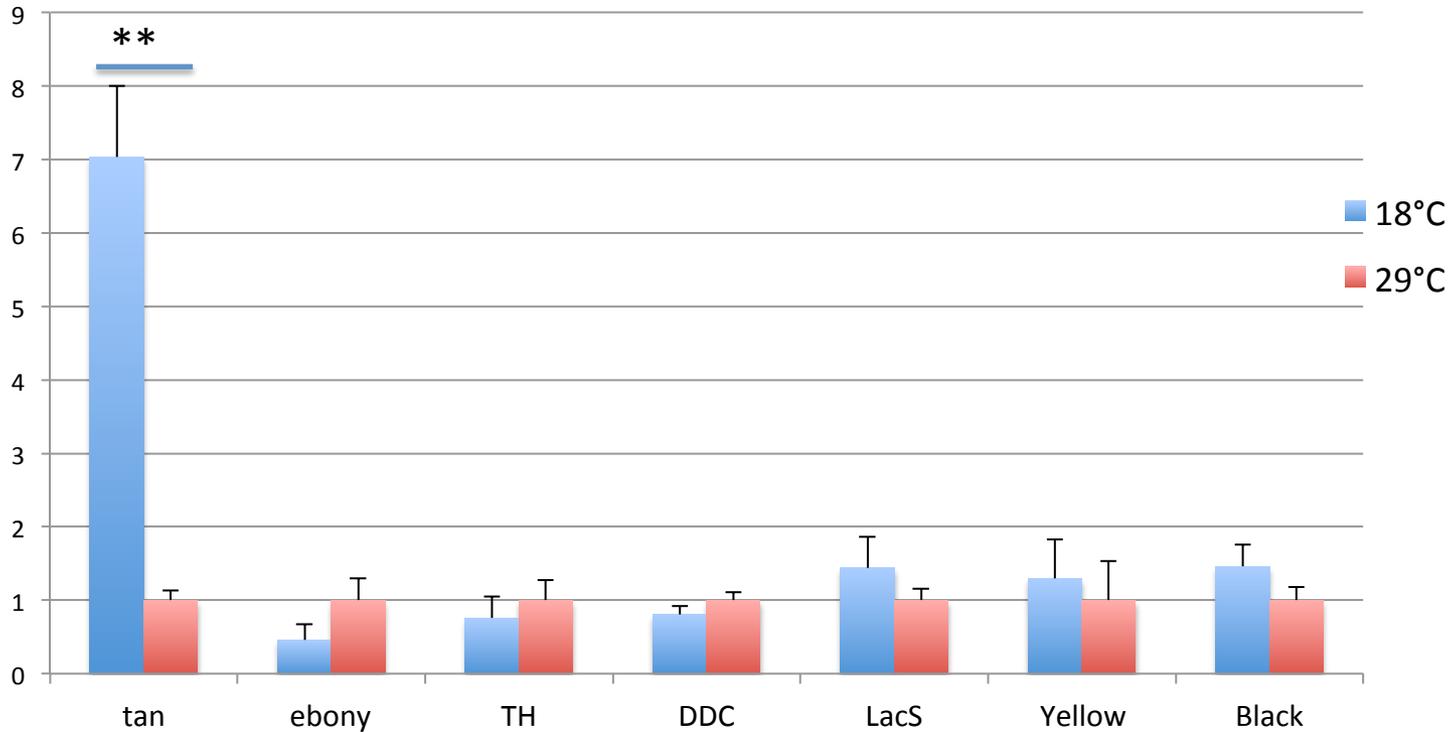
# L'expression de plusieurs gènes codant des enzymes de pigmentation est modulée par la température dans l'épiderme abdominal pupal



RT-qPCR sur 3 réplicats biologiques normalisée avec *Act5c* et *RP49*

(Gibert, Mouchel-Vielh et al., PLoS Genetics, 2016)

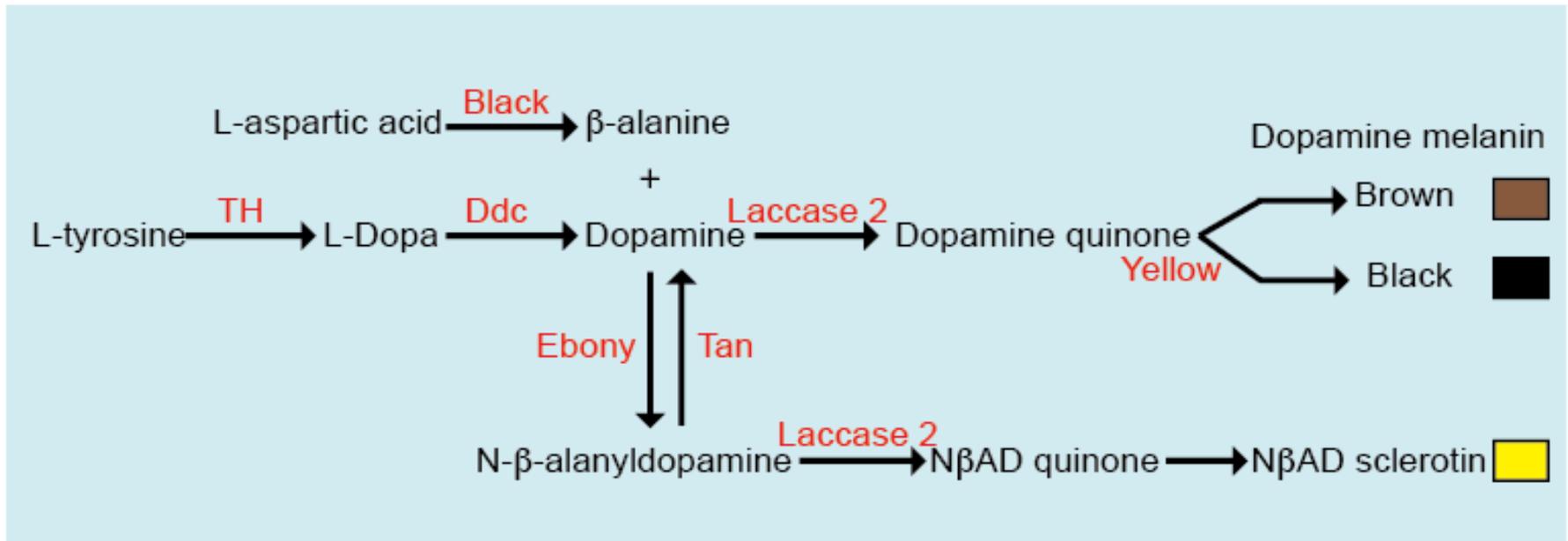
# L'expression de *tan* est fortement modulée par la température dans l'épiderme abdominal des femelles fraîchement écloses



RT-qPCR sur 3 réplicats biologiques normalisée avec *Act5c* et *RP49*

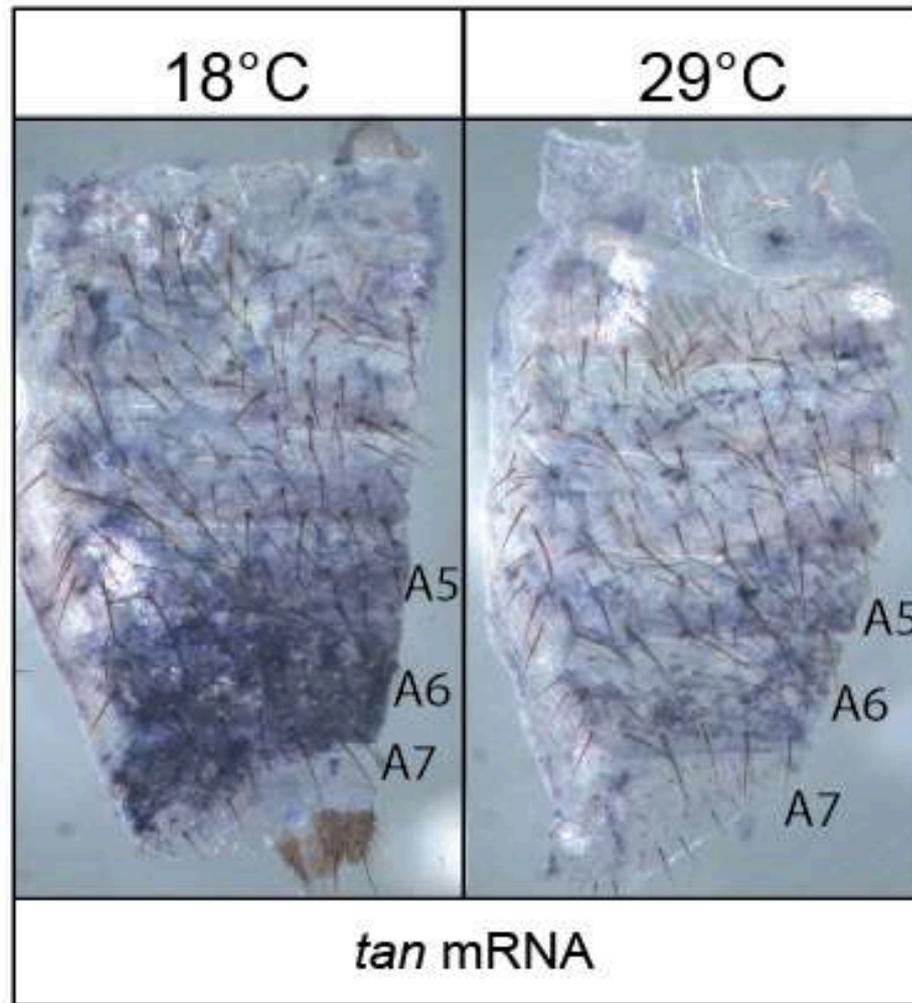
(Gibert, Mouchel-Vielh *et al.*, 2016)

## Voie de synthèse des pigments de la cuticule



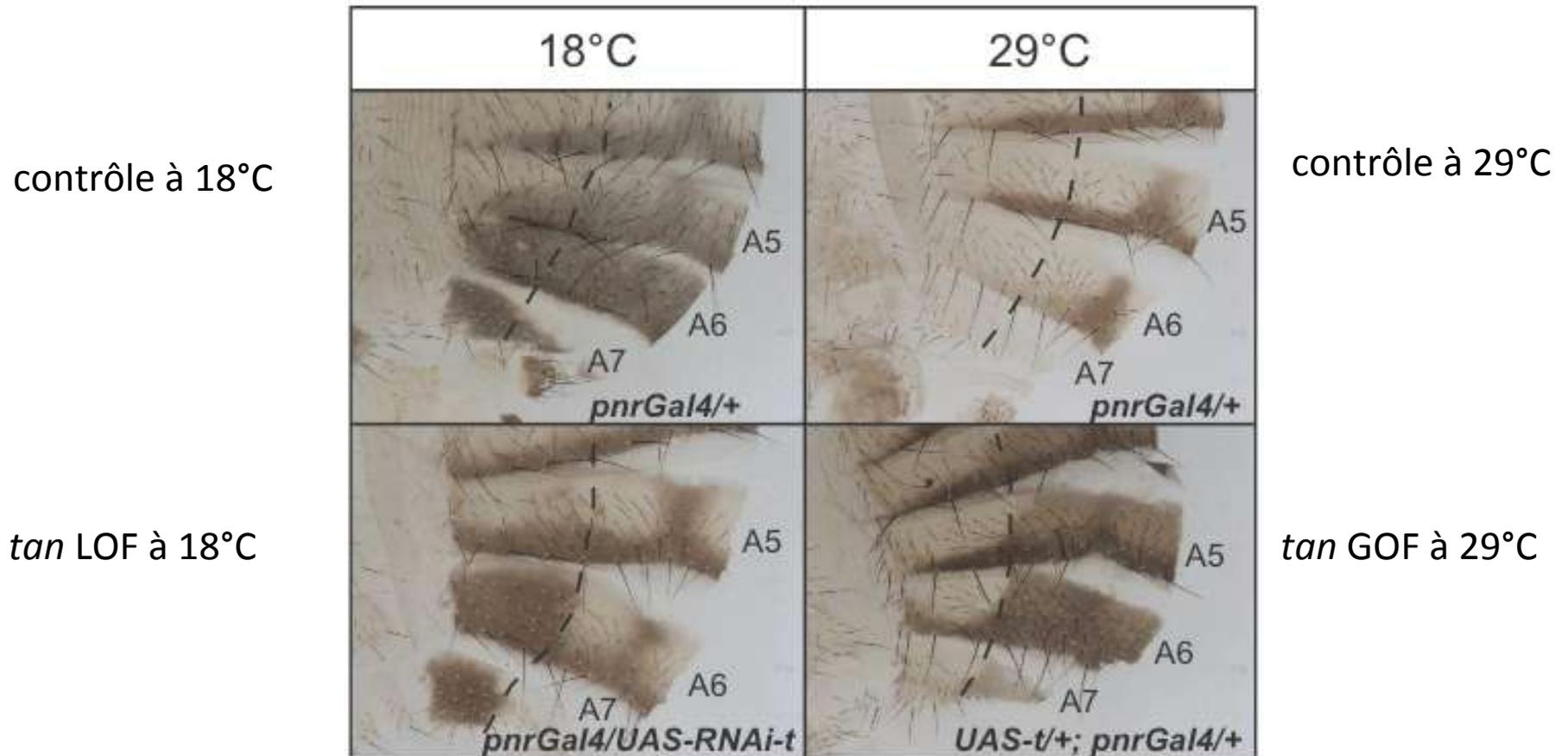
D'après Riedel *et al.* (2011)

## L'expression de *tan* est modulée par la température



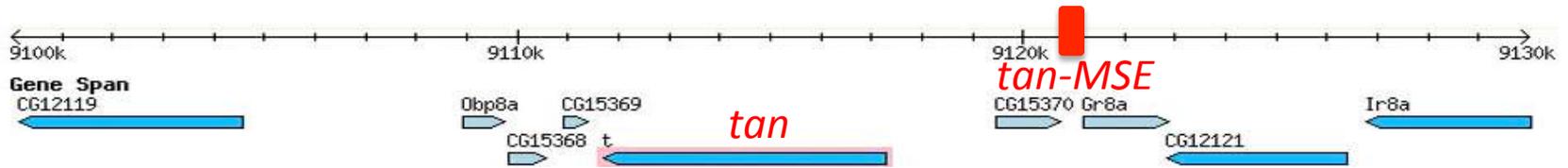
(Gibert, Mouchel-Vielh et al., PLoS Genetics, 2016)

# La modulation par la température de l'expression de *tan* est essentielle pour la plasticité de la pigmentation



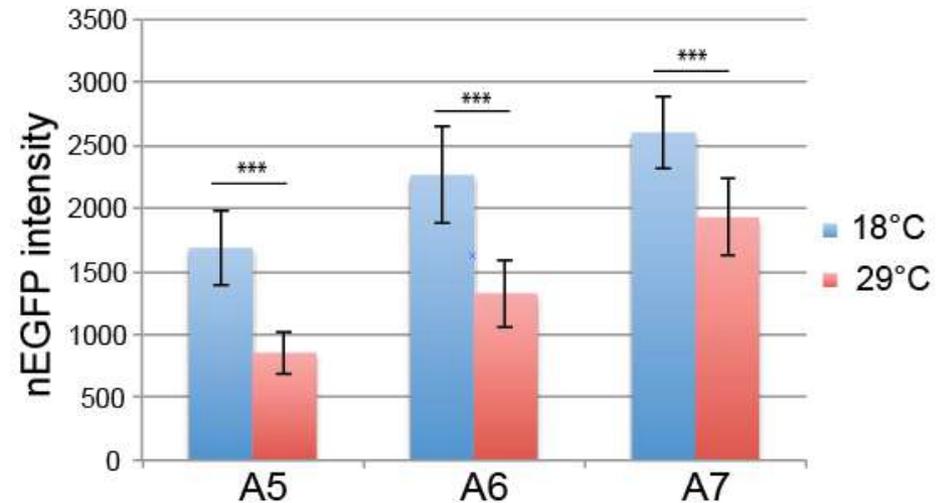
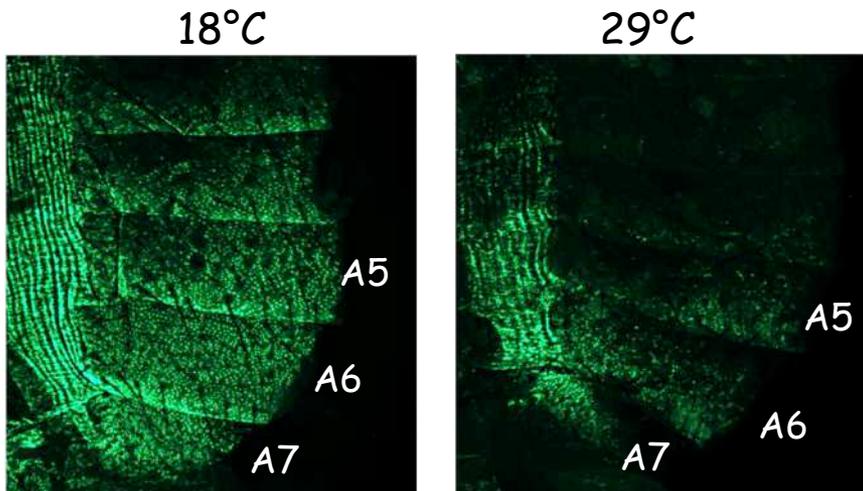
(Gibert, Mouchel-Vielh *et al.*, 2016)

# L'effet de la température sur l'expression de *tan* est médiée par l'enhancer *tan-MSE*



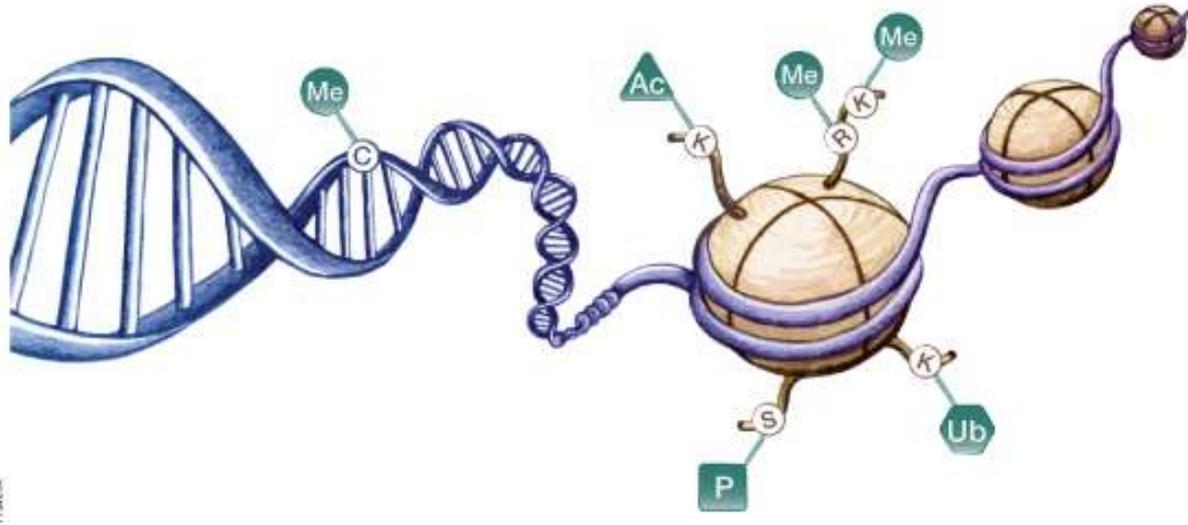
after Jeong *et al.*, 2008

L'expression de la GFP dans la lignée *tan-MSE GFP* est sensible à la température



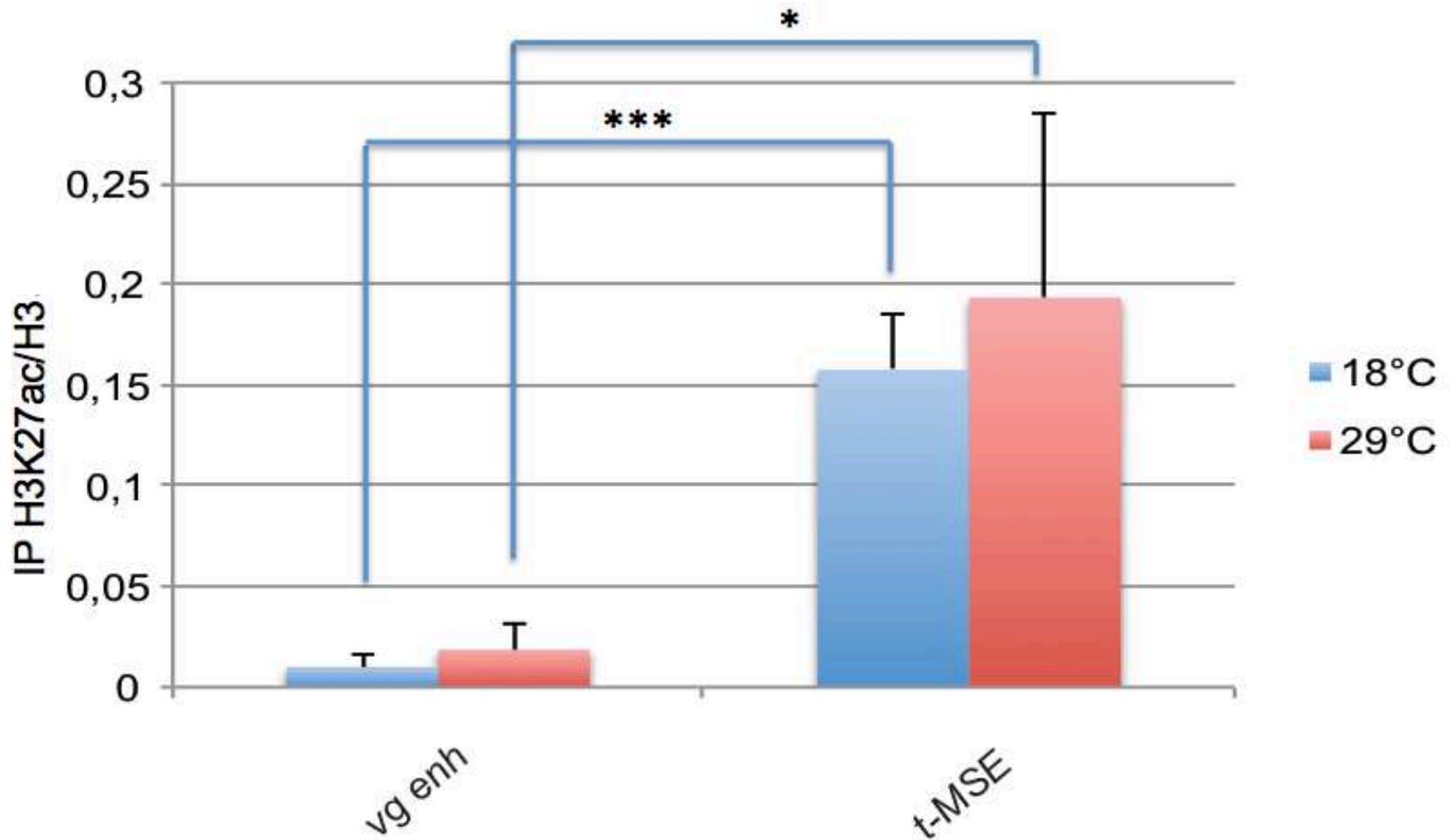
(Gibert, Mouchel-Vielh *et al.*, PLoS Genetics, 2016)

## Marques d'histones analysées au niveau de *tan*



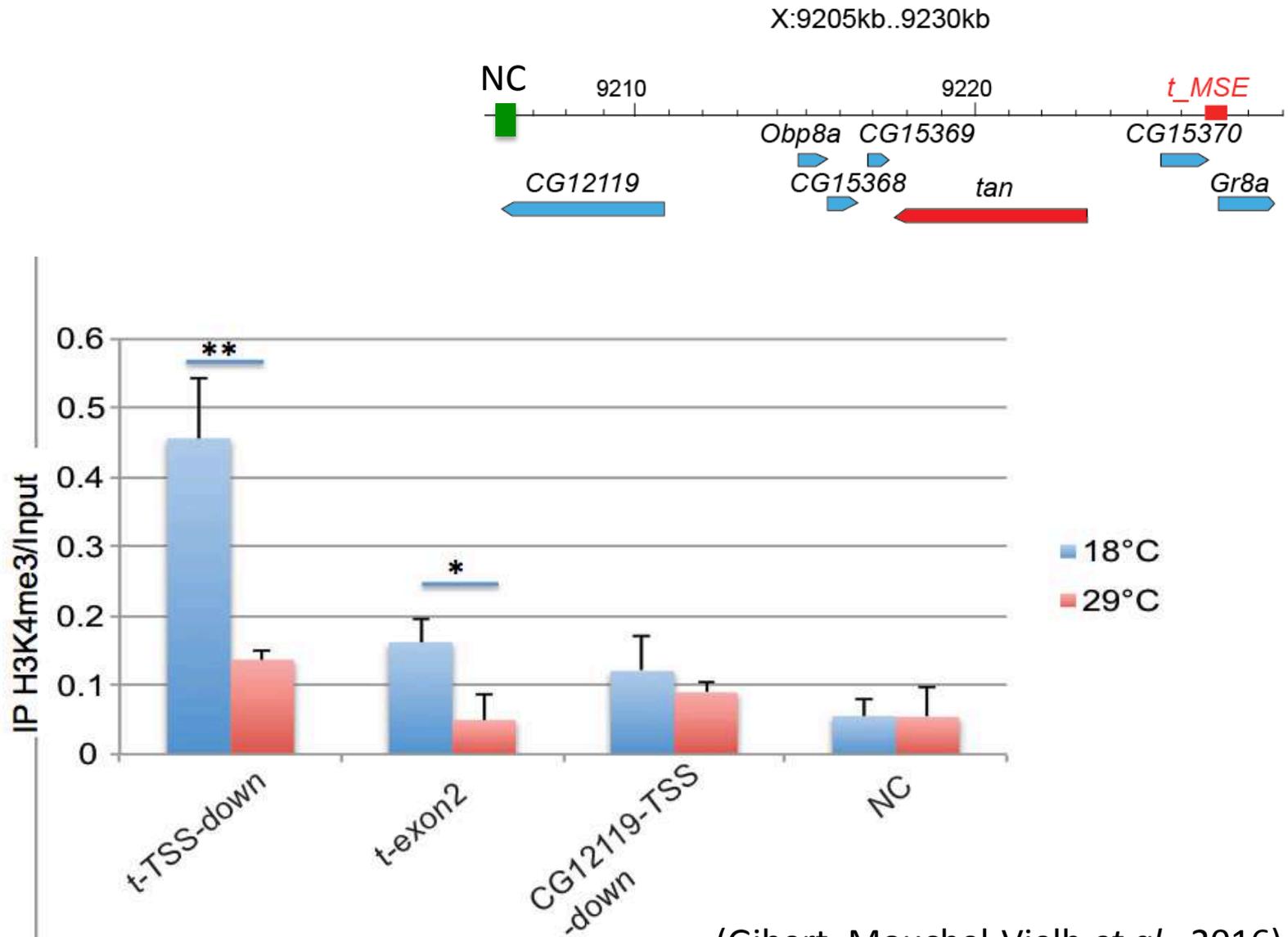
Marque	localisation	Indication
H3K4me3	Promoteur	Gènes actifs
H3K27ac	Enhancer	Enhancers actifs

**Le *t\_MSE* est enrichi en H3K27ac, mais cette marque d'histone n'est pas modulée par la température**



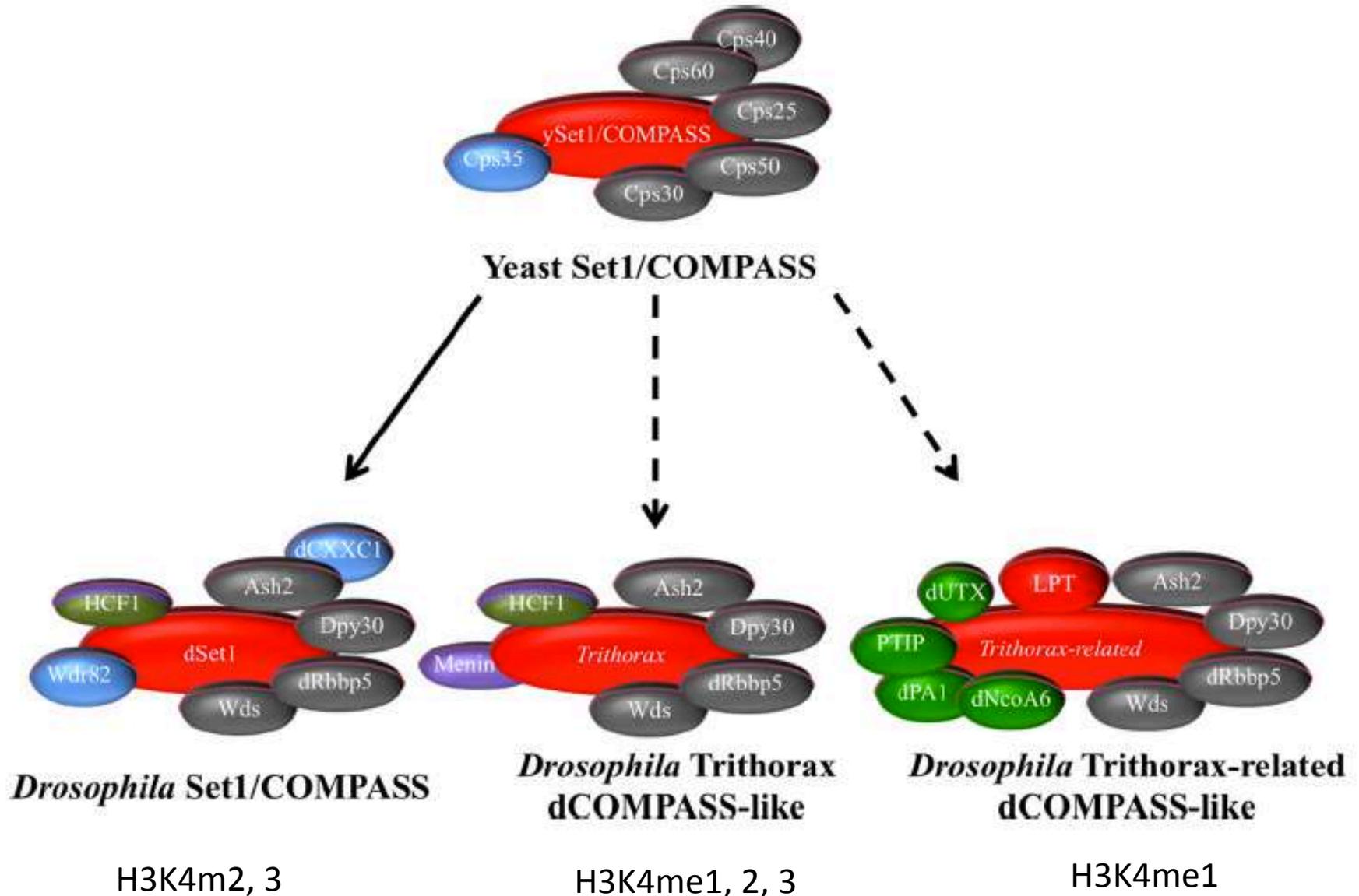
(Gibert, Mouchel-Vielh et al., PLoS Genetics, 2016)

# H3K4me3 est fortement modulée par la température sur le promoteur de *tan*



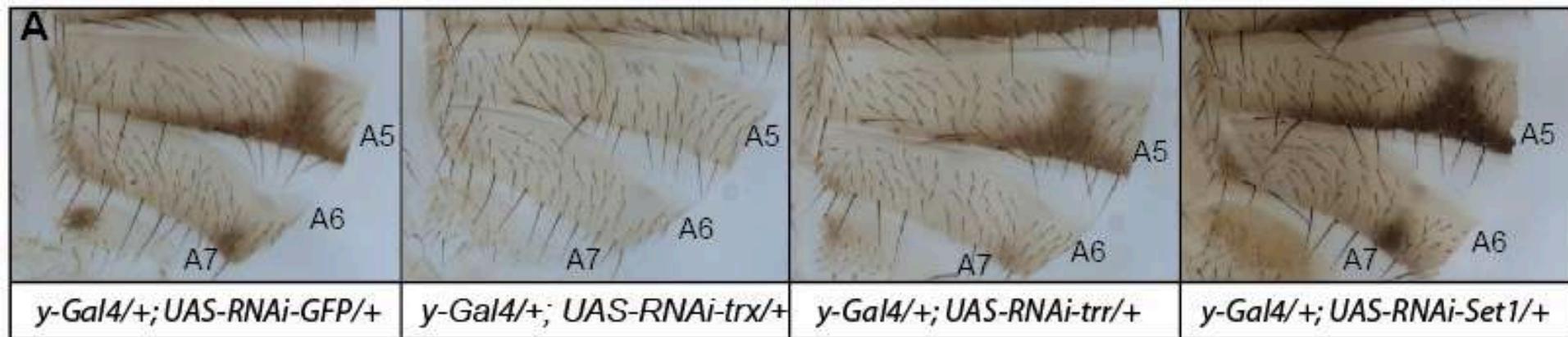
(Gibert, Mouchel-Vielh *et al.*, 2016)

# Complexes impliqués dans la méthylation de H3K4



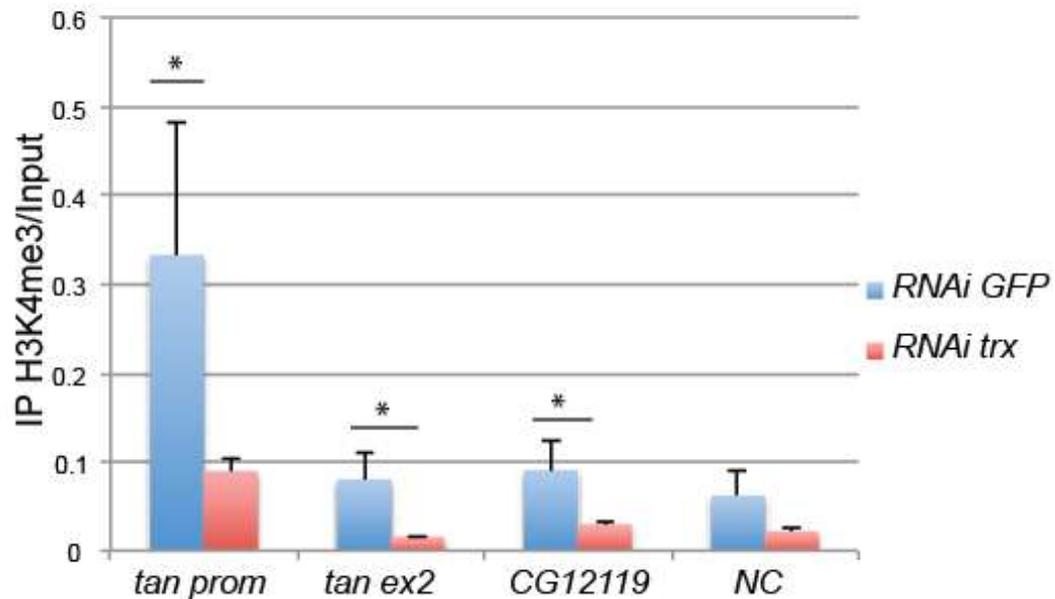
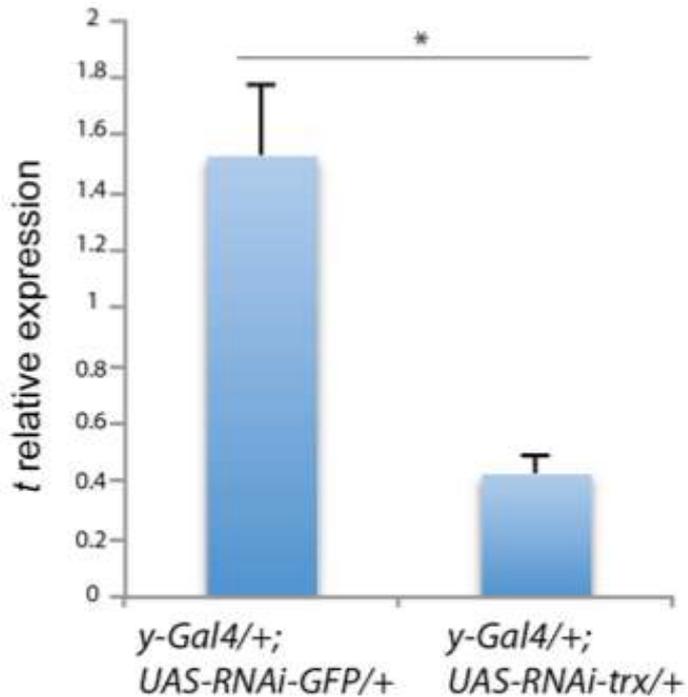
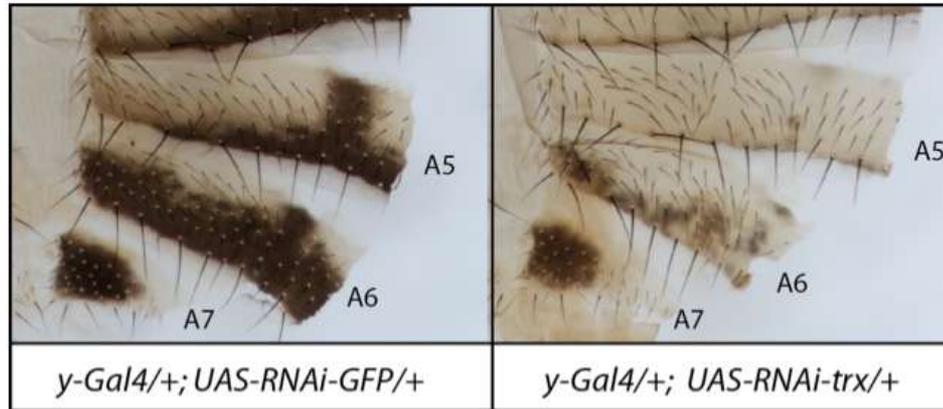
(Mohan *et al.*, 2011; Herz, *et al.*, 2012; Hallson *et al.*, 2012; Tie *et al.*, 2014; Smith *et al.*, 2004)

# Phénotypes de pigmentation des pertes de fonction des méthyle-transférases de H3K4



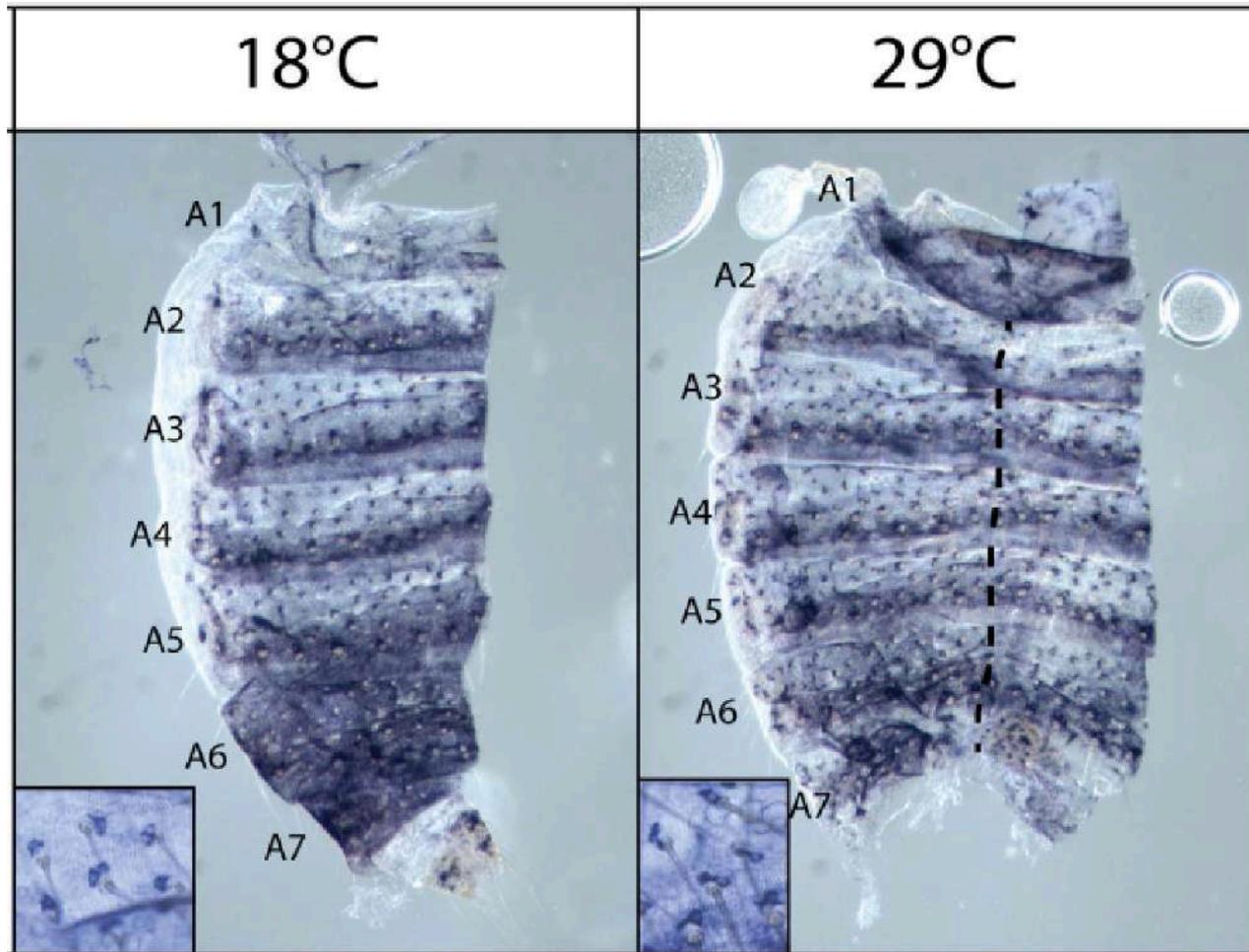
(Gibert, Mouchel-Vielh *et al.*, 2016)

# La méthyle-transférase Trithorax est impliquée dans la pigmentation abdominale et la régulation de *tan*



(Gibert, Mouchel-Vielh *et al.*, 2016)

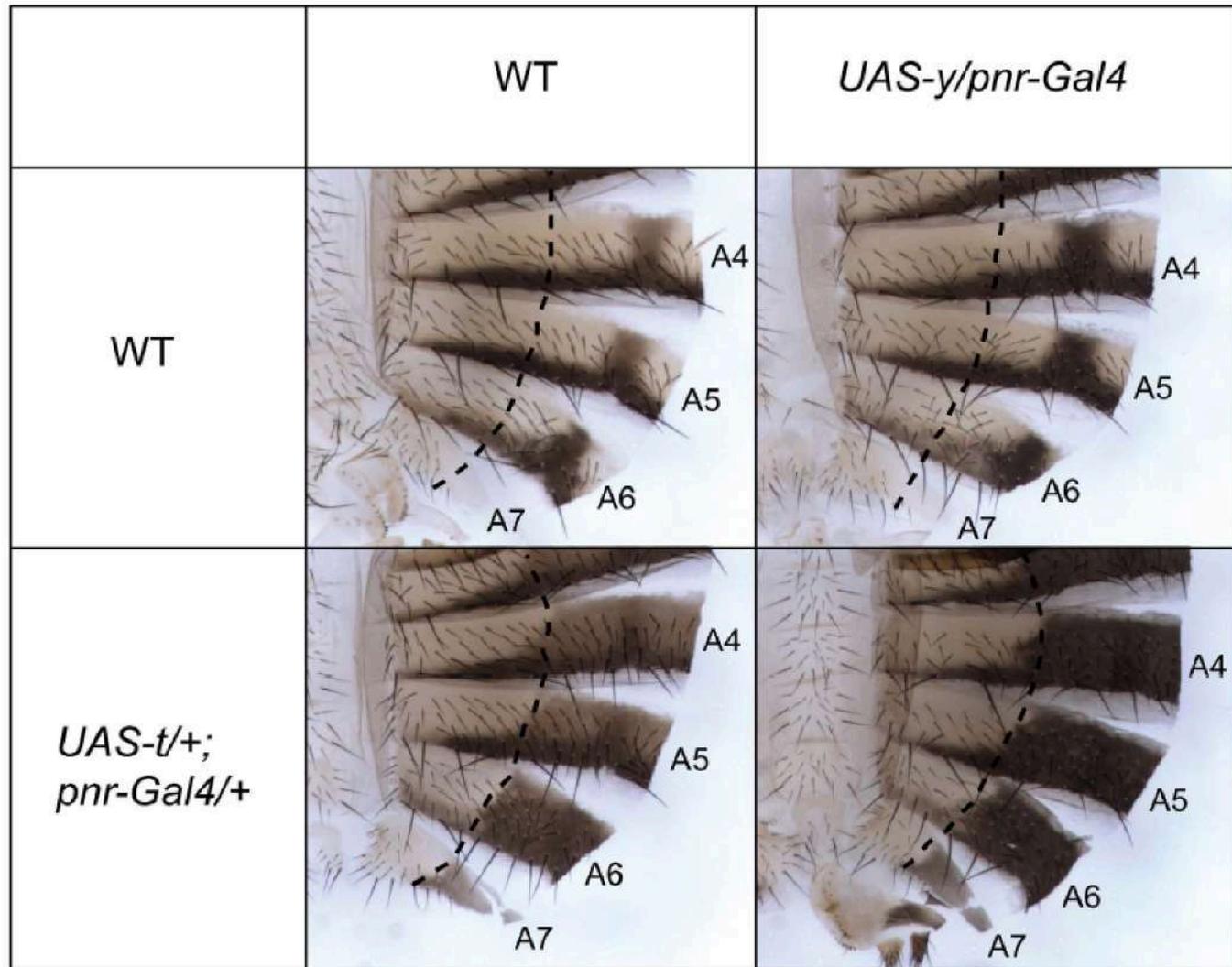
*L'expression de yellow* est modulée par la température au stade pupal



*Hybridation in situ* des ARNm de *yellow*

(Gibert et al., 2017)

***tan* et *yellow* sont tous deux impliqués dans la plasticité thermique de la pigmentation abdominale**



(Gibert et al., 2017)

## Conclusions

La modulation par la température de l'expression de *tan* joue un rôle majeur dans la plasticité de la pigmentation abdominale des femelles. La modulation de l'expression de *yellow* par la température est également impliquée.

L'effet de la température sur *tan* est médié au moins en partie par le *t\_MSE*. Cependant, nous n'avons pas détecté de modification de la structure de la chromatine sur le *t\_MSE* par la température.

En revanche la marque H3K4me3 est fortement modulée par la température sur le promoteur de *tan*.

La méthyl-transferase de H3K4me3 impliquée est Trithorax qui régule la pigmentationn abdominale, l'expression de *tan* et le niveau de H3K4me3 sur le promoteur de *tan*.

25°C

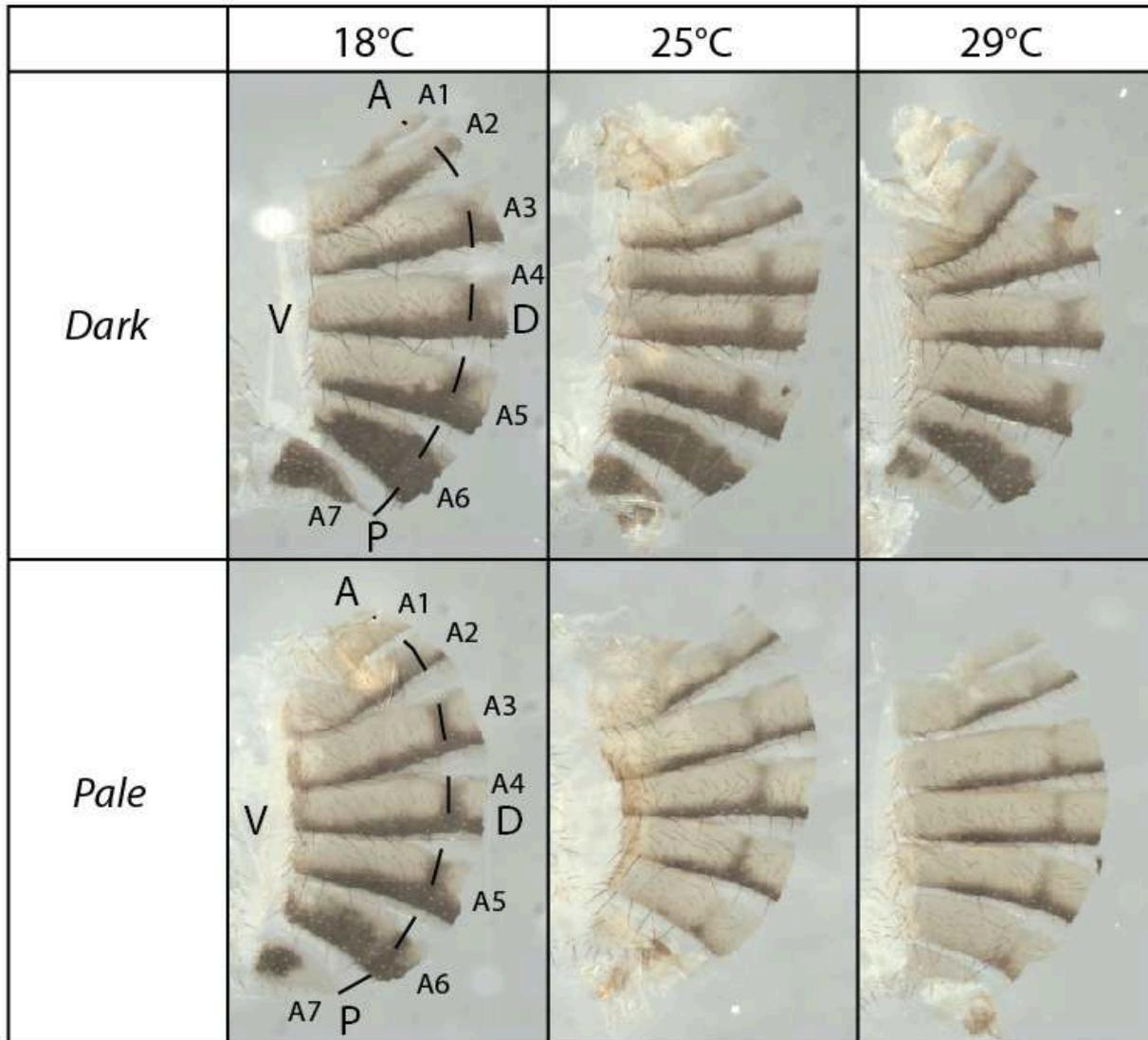
*lignée Pale*

*Lignée Dark*



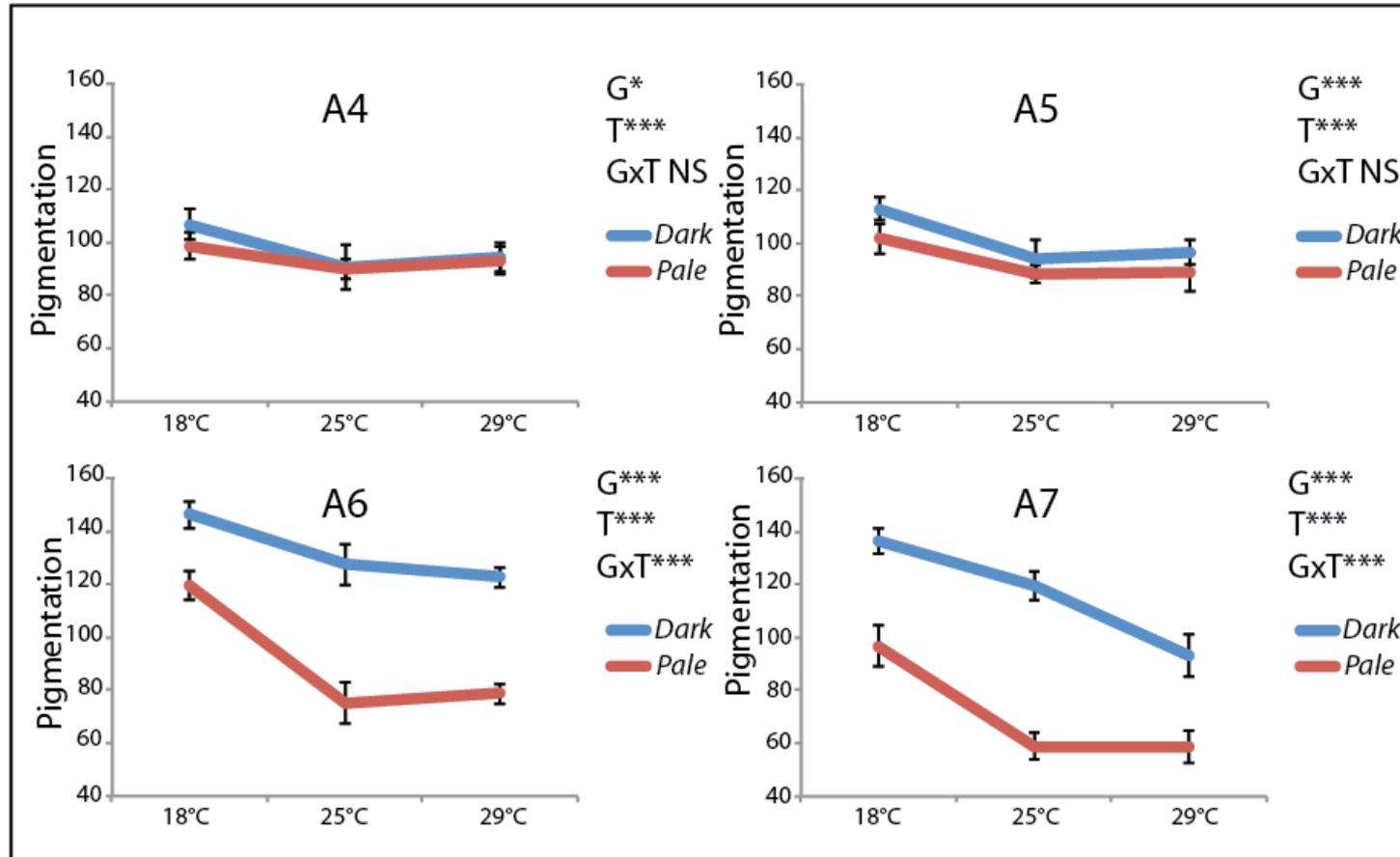
(De Castro *et al.*, 2018)

# Phénotypes des lignées *Dark* et *Pale* à différentes températures



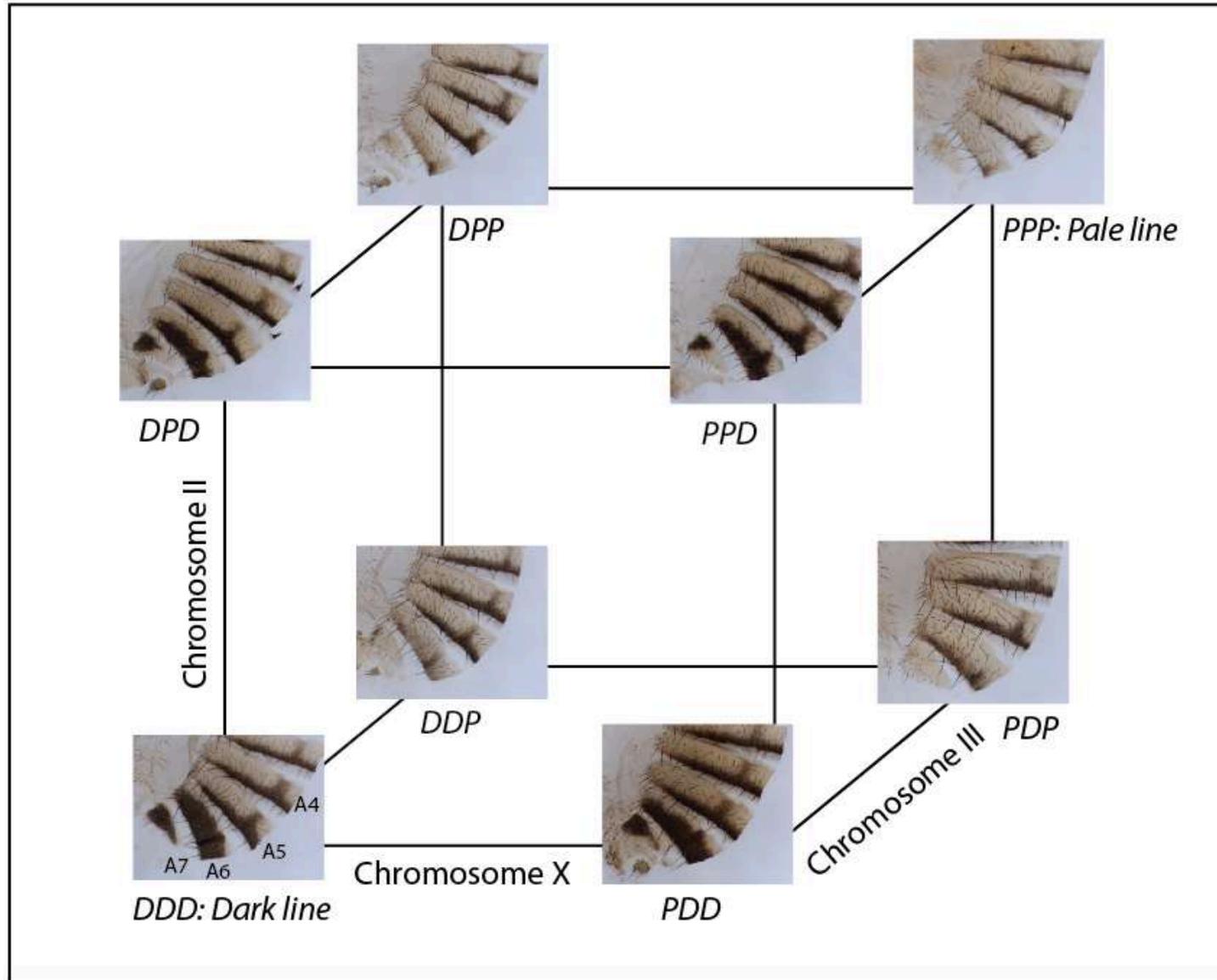
(De Castro *et al.*, PLOS Genetics, 2018)

## Normes de réaction des lignées *Dark* et *Pale*



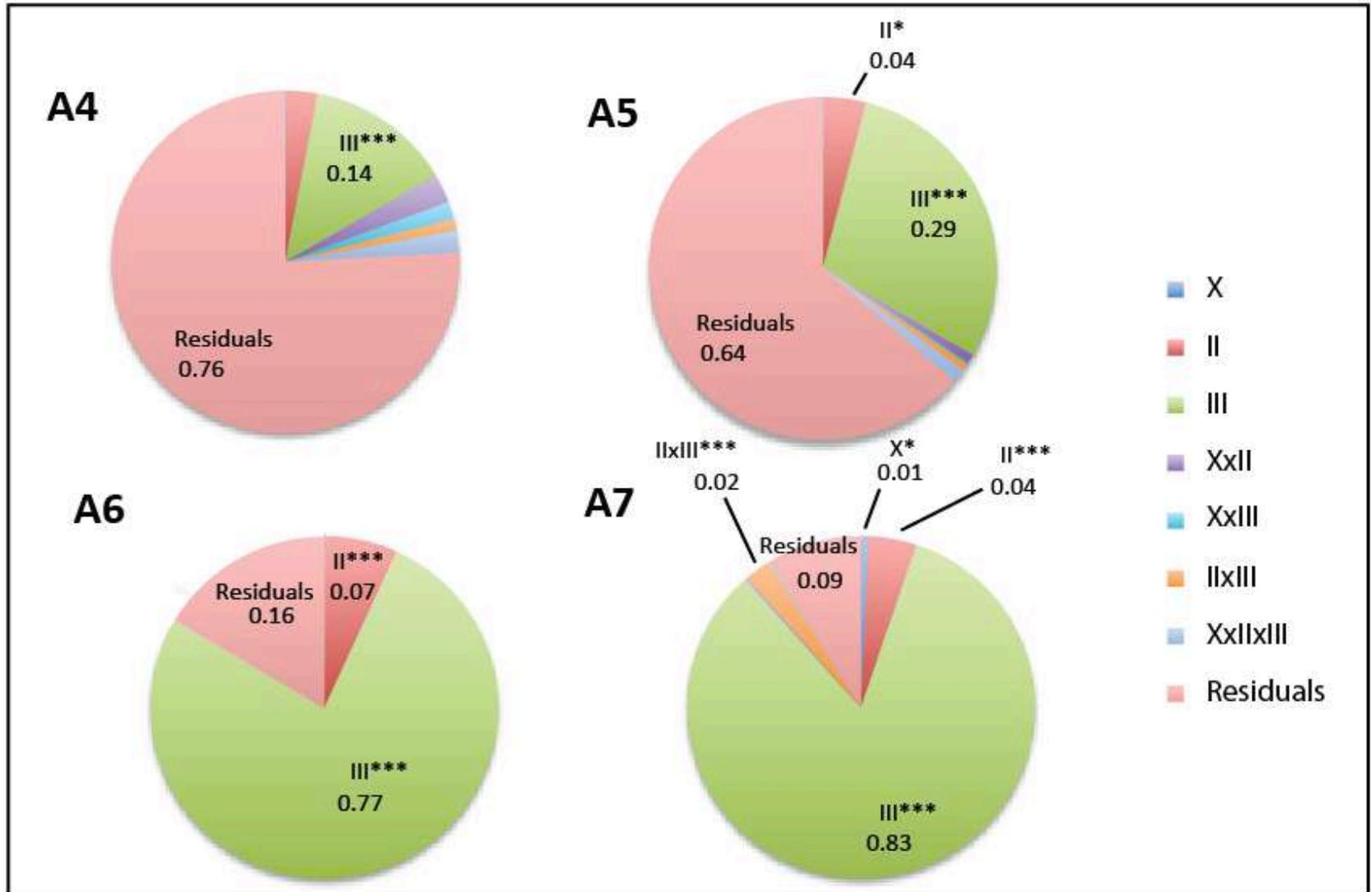
(De Castro *et al.*, PLOS Genetics, 2018)

# Effets des différents chromosomes des lignées *Dark* et *Pale* sur la pigmentation



(De Castro *et al.*, 2018)

## Le chromosome III joue un rôle majeur dans la différence de pigmentation des lignées *Dark* et *Pale*



(De Castro *et al.*, 2018)

# ***bab*, un QTL majeur pour la pigmentation abdominale femelle**

Copyright © 2003 by the Genetics Society of America

## **Quantitative Trait Loci Responsible for Variation in Sexually Dimorphic Traits in *Drosophila melanogaster***

**Artyom Kopp,\* Rita M. Graze,† Shizhong Xu,‡ Sean B. Carroll\* and Sergey V. Nuzhdin<sup>†,1</sup>**

*\*Howard Hughes Medical Institute and Laboratory of Molecular Biology, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin 53706,*

*†Section of Evolution and Ecology, University of California, Davis, California 95616 and ‡Department of Botany and Plant Sciences, University of California, Riverside, California 92521*

2003

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS GENETICS

## **Composite Effects of Polymorphisms near Multiple Regulatory Elements Create a Major-Effect QTL**

2011

**Ryan D. Bickel<sup>1,2\*</sup>, Artyom Kopp<sup>3</sup>, Sergey V. Nuzhdin<sup>2</sup>**

**1** School of Biological Science, University of Nebraska – Lincoln, Lincoln, Nebraska, United States of America, **2** Program in Molecular and Computational Biology, Department of Biological Sciences, University of Southern California, Los Angeles, California, United States of America, **3** Department of Evolution and Ecology, University of California Davis, Davis, California, United States of America

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS GENETICS

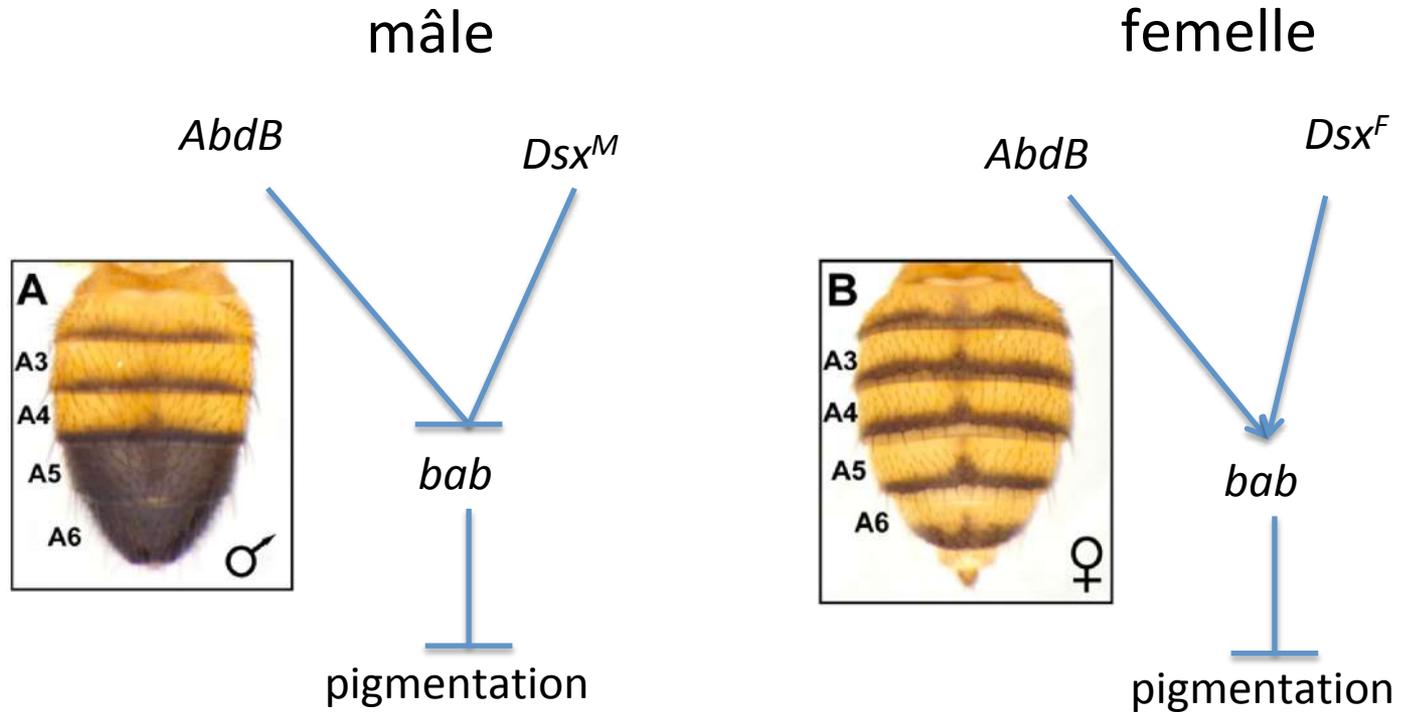
## **Recurrent Modification of a Conserved *Cis*-Regulatory Element Underlies Fruit Fly Pigmentation Diversity**

2013

**William A. Rogers<sup>1</sup>, Joseph R. Salomone<sup>1</sup>, David J. Tacy<sup>1</sup>, Eric M. Camino<sup>1</sup>, Kristen A. Davis<sup>1</sup>, Mark Rebeiz<sup>2</sup>, Thomas M. Williams<sup>1,3\*</sup>**

**1** Department of Biology, University of Dayton, Dayton, Ohio, United States of America, **2** Department of Biological Sciences, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, United States of America, **3** Center for Tissue Regeneration and Engineering at Dayton, University of Dayton, Dayton, Ohio, United States of America

# *bab* et la régulation du dimorphisme de la pigmentation



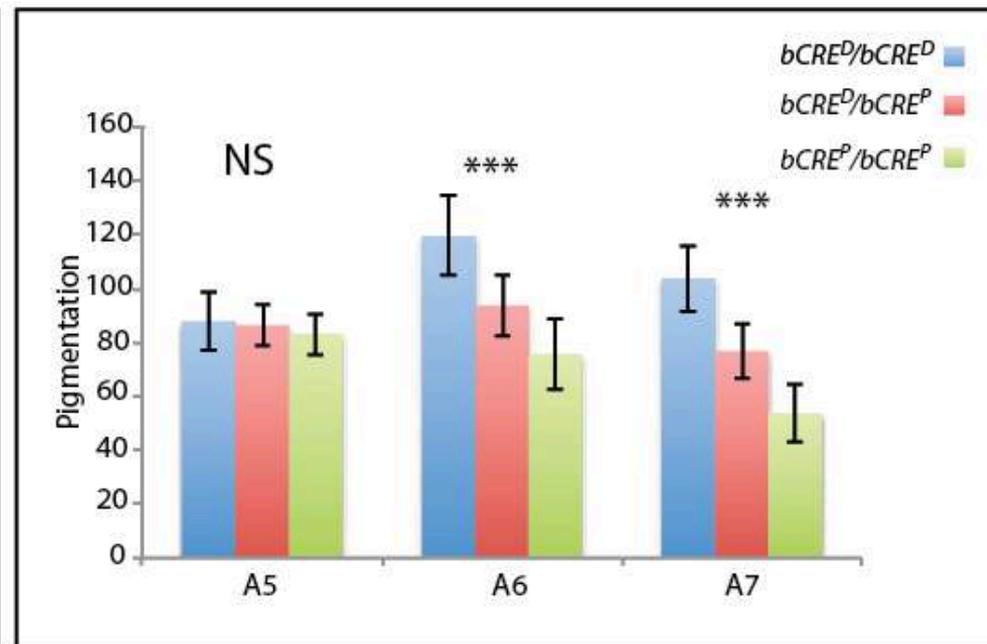
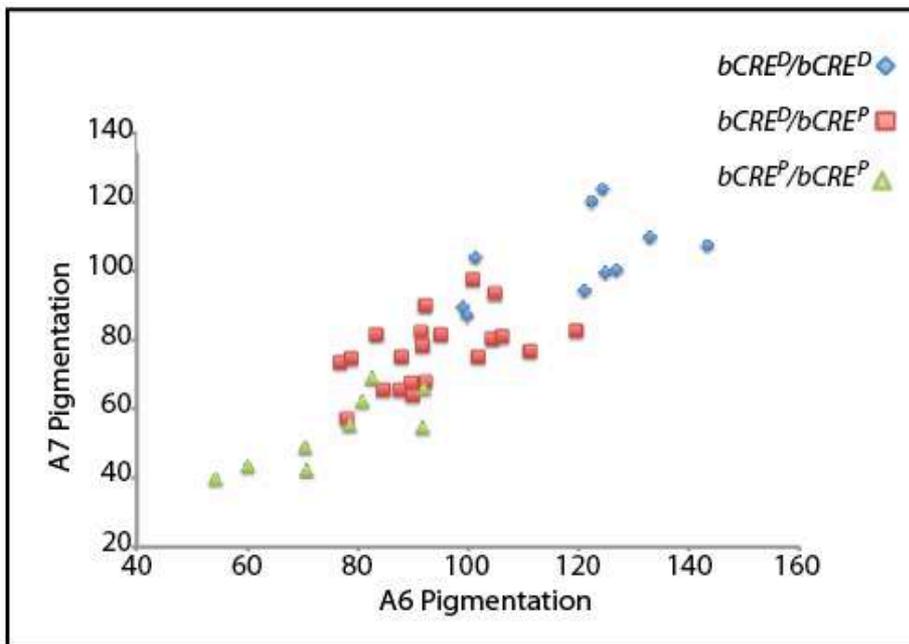
(Williams et al., 2008)

# CRE dimorphique de *bab* des lignées in $w^{1118}$ , *Dark* and *Pale*

Canton/w	TTTTAAGACCATAAATTCAGCTCACTCTCTCTCTCGCTCTTTCTCTTTGCCATTTTAA	480
Dark	TTTTAAGACCATAAATTCAGCTCACTCTCTCTCTCGCTCTTTCTCTTTGCCATTTTAA	480
Pale	TTTTAAGACCATAAATTCAGCTCACTCTCTCTCTCGCTCTTTCTCTTTGCCATTTTAA	480
	*****	
	AbdB1                      AbdB2    AbdB3	
Canton/w	CTTTTATTACTCTTAATATAAA <del>AAAGCTGGCTAGATGCGG</del> GCCAGCTGTAAA <del>AATGCACG</del>	540
Dark	CTTTTATTACTCTTAATATAAAAAAGCTGGCTAGATGCGG <del>-----</del>	520
Pale	CTTTTATTACTCTTAATATAAAAAAGCTGGCTAGATGCGG <del>-----</del> GCCAGCTGTAAAAAATGCACG	540
	*****	
	AbdB4	
Canton/w	CGGTCATAAAAAGTTGCAGGAGGCATGTTGCCAGTTGCCTGCAACCGGCAACATTTCGCAG	600
Dark	<del>-----</del> GCCTGCAACCGGCAACATTTCGCAG	544
Pale	CGGTCATAAAAAGTTGCAGGAGGCATGTTGCCAGTTGCCTGCAACCGGCAACATTTCGCAG	600
	*****	
	AbdB5                                      D    Dsx1	
Canton/w	AACAGCAGCAACATCGTAAAATAACTTCTTCTCTGCGGTCTGAGTTTGCCCGCAACAAT	660
Dark	AACAGCAGCAACATCGTAAAATAACTTCTTCTCTGCGGTCTGAGTTTGCCCGCAACAAT	604
Pale	AACAGCAGCAACATCGTAAAATAACTTCTTCTCTGCGGTCTGAGTTTGCCCGCAACAAT	660
	*****	
	AbdB6	
Canton/w	GTTGCTGCATTTATTTCGTATPATTATTACATTTTAATGAATAATTCTAATPATTATGCAAC	720
Dark	GTTGCTGCATTTATTTCGTATPATTATTACATTTTAATGAATAATTCTAATPATTATGCAAC	664
Pale	GTTGCTGCATTTATTTCGTATPATTATTACATTTTAATGAATAATTCTAATPATTATGCAAC	720
	*****	
	AbdB7	
Canton/w	TTGAATAAGCCCGCCGATGCCAATAAAAGCGGCGTGGCAAAGTGGAGTGGACTGGGTTT	780
Dark	TTGAATAAGCCCGCCGATGCCAATAAAAGCGGCGTGGCAAAGTGGAGTGGACTGGGTTT	724
Pale	TTGAATAAGCCCGCCGATGCCAATAAAAGCGGCGTGGCAAAGTGGAGTGGACTGGGTTT	780
	*****	
	AbdB8	
Canton/w	GTGTGGCGCCCCTGCTAGTGGCACATAAAAATTGGCGCAAGTTAATTGTGGTAGTTATTT	840
Dark	GTGTGGCGCCCCTGCTAGTGGCACATAAAAATTGGCGCAAGTTAATTGTGGTAGTTATTT	784
Pale	GTGTGGCGCCCCTGCTAGTGGCACATAAAAATTGGCGCAAGTTAATTGTGGTAGTTATTT	840
	*****	
	AbdB9              AbdB10	
Canton/w	GCTGTTTTGCCATTTGGTCATTTTACAATTTTACCATTTCAGCCACAACFTTTCGCACTG	900
Dark	GCTGTTTTGCCATTTGGTCATTTTACAATTTTACCATTTCAGCCACAACFTTTCGCACTG	844
Pale	GCTGTTTTGCCATTTGGTCATTTTACAATTTTACCATTTCAGCCACAACFTTTCGCACTG	900
	*****	

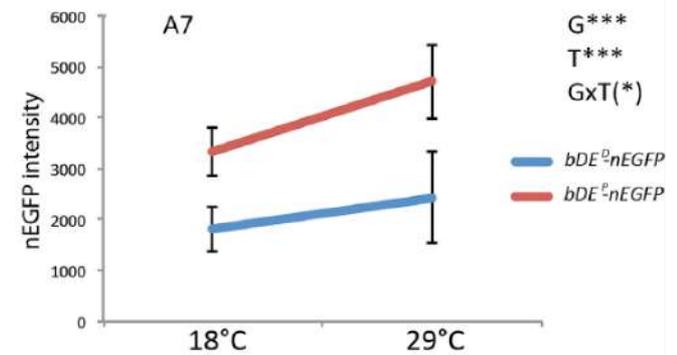
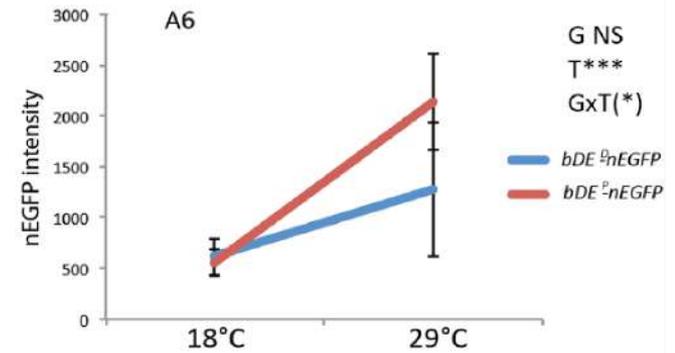
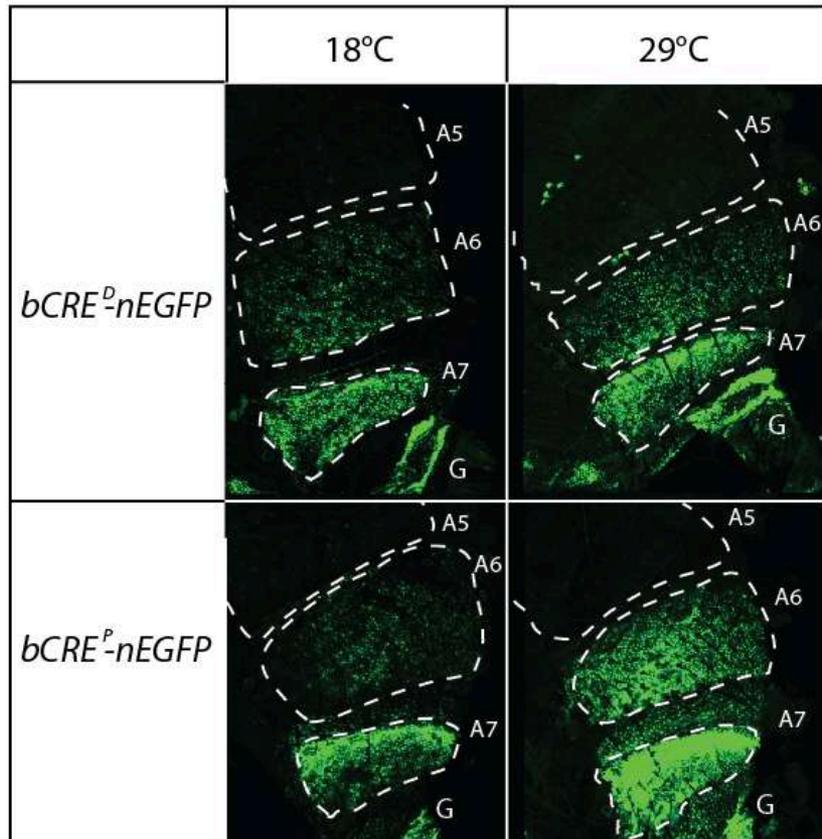
(De Castro *et al.*, 2018)

**Le génotypage d'une F2 issue d'un croisement *Dark x Pale* montre que le locus *bab* est lié au phénotype de pigmentation**



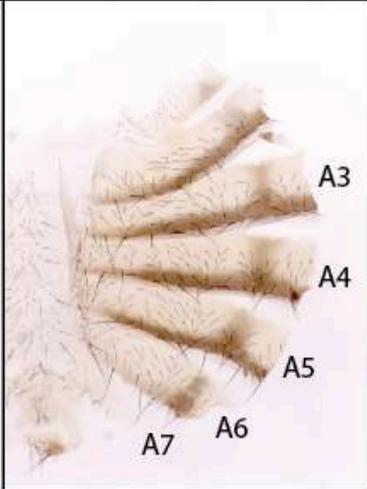
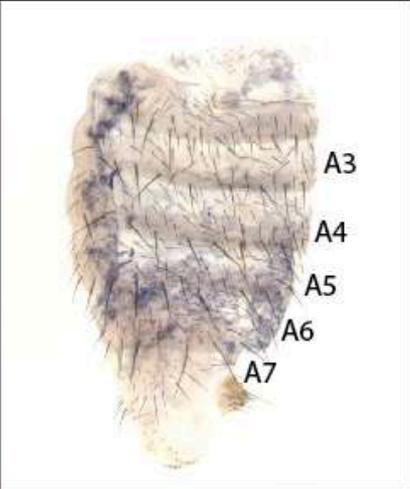
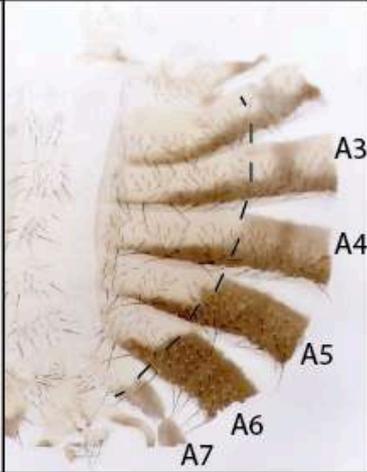
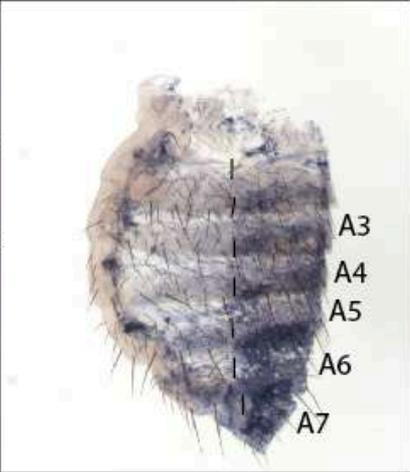
(De Castro *et al.*, 2018)

## Comparaison des activités des enhancers abdominaux de *bab* des lignées *Dark* et *Pale*



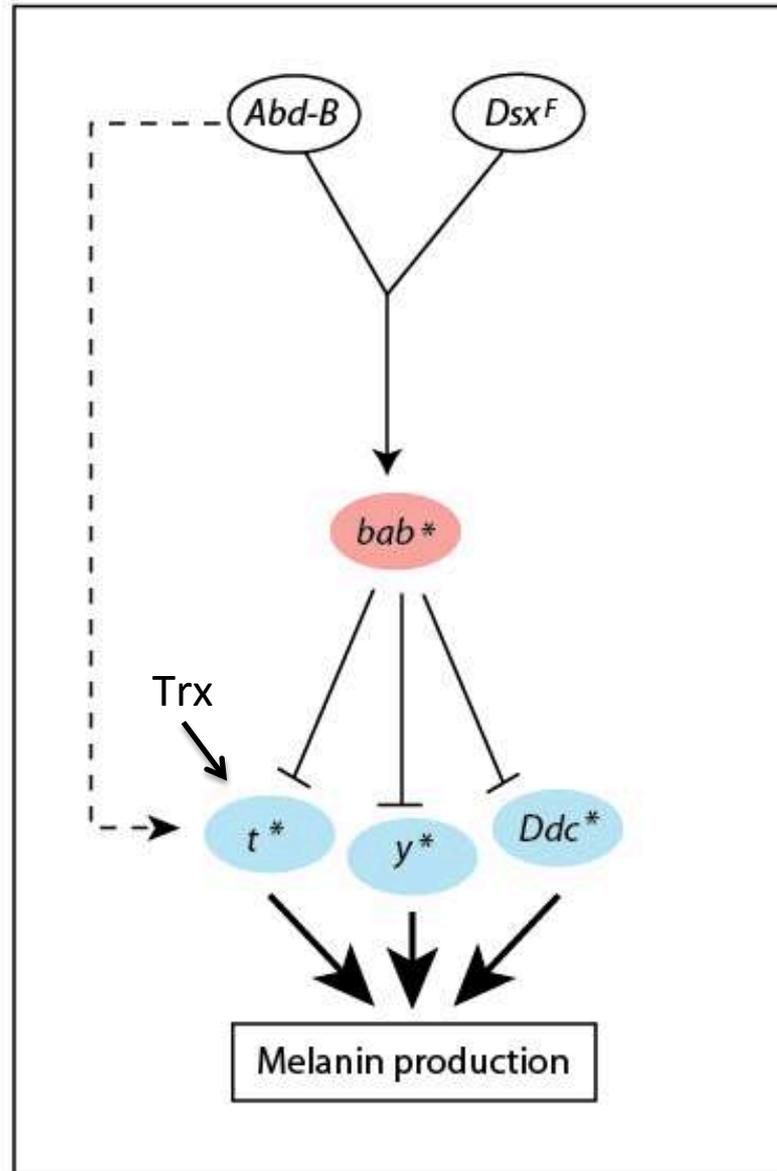
(De Castro *et al.*, 2018)

## *bab* réprime *tan*

	Cuticle phenotype	<i>tan</i> expression
WT		
<i>RNAi-bab1/+; pnrGal4/+</i>		

(De Castro *et al.*, 2018)

# Modèle



(Gibert, Mouchel-Vielh *et al.*, 2016; Gibert *et al.*, 2017; De Castro *et al.*, 2018)

## Conclusion: plusieurs modes de réponse aux variations de température

A la fois la variation génétique et la plasticité phénotypique permettent aux drosophiles de répondre aux variations de température en modulant la pigmentation, mais à des échelles de temps différentes.

Ce sont souvent les mêmes gènes qui portent de la variation génétique avec un impact fonctionnel et qui sont modulés transcriptionnellement par la température (*tan*, *bab*).

De plus, on sait que certaines espèces ont répondu au réchauffement climatique en migrant: exemple de *Drosophila nepalensis* (Singh, 2012).

Néanmoins, des changements trop marqués peuvent conduire à l'extinction de certaines populations.

# Remerciements

Delphine Cumenal  
Marco Da Costa  
Laurent Freoa  
Jean-Michel Gibert  
Emmanuèle Mouchel-Vielh  
Raphaël Narbey  
Frédérique Peronnet  
Valérie Ribeiro  
Hélène Thomassin-Bourrel

Sandra De Castro

## Plateforme Imagerie:

Jean-François Gilles

## Collaborations:

Luis-Miguel Chevin (CEFE, Montpellier)  
Philippe Christol (IES, Montpellier)  
Sylvie Méléard (CMAP, Palaiseau)  
Michael Rera (CRI, Paris)  
Amandine Véber (MAP5, CNRS-U Paris Cité).

Thomas Flatt (Fribourg U, Suisse)  
Christian Schlötterer (Vetmeduni, Autriche)  
Hédi Soula (SU)

