



HAL
open science

La plasticité phénotypique chez les insectes

Jean-Michel Gibert

► **To cite this version:**

Jean-Michel Gibert. La plasticité phénotypique chez les insectes. *Biologie Aujourd'hui*, 2020, 214 (1-2), pp.33-44. 10.1051/jbio/2020005 . hal-02940984

HAL Id: hal-02940984

<https://hal.science/hal-02940984v1>

Submitted on 18 Sep 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ARTICLE

La plasticité phénotypique chez les insectes

Jean-Michel Gibert*

Sorbonne Université, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), UMR7622, Institut de Biologie Paris Seine, Laboratoire de Biologie du Développement (IBPS-LBD), 75005 Paris, France

Reçu le 23 mai 2020

Résumé – Les insectes représentent 85 % des animaux. Ils se sont adaptés à de nombreux environnements et jouent un rôle majeur dans les écosystèmes. De nombreuses espèces d'insectes montrent de la plasticité phénotypique. Nous présentons ici les mécanismes impliqués dans la plasticité phénotypique chez différents insectes (les pucerons, le criquet migrateur, le papillon carte géographique, l'abeille ainsi que la plasticité nutritionnelle de la taille chez la drosophile et la plasticité des ocelles sur les ailes du papillon *Bicyclus anynana*). Nous décrivons également plus en détail nos travaux sur la plasticité thermique de la pigmentation chez la drosophile. Le froid induit une pigmentation abdominale plus foncée chez les femelles drosophiles. Nous avons montré que l'expression des gènes *tan*, *yellow* et *Ddc*, codant des enzymes de la voie de synthèse des mélanines, est modulée par la température et que c'est une conséquence, au moins en partie, de l'expression sensible à la température des gènes du locus *bab* qui les répriment.

Mots clés : plasticité phénotypique, insectes, expression génétique, plasticité thermique, phenotypic

Abstract – Phenotypic plasticity in insects. Insects represent 85% of the animals. They have adapted to many environments and play a major role in ecosystems. Many insect species exhibit phenotypic plasticity. We here report on the mechanisms involved in phenotypic plasticity of different insects (aphids, migratory locust, map butterfly, honeybee) and also on the nutritional size plasticity in *Drosophila* and the plasticity of the wing eye-spots of the butterfly *Bicyclus anynana*. We also describe in more detail our work concerning the thermal plasticity of pigmentation in *Drosophila*. We have shown that the expression of the *tan*, *yellow* and *Ddc* genes, encoding enzymes of the melanin synthesis pathway, is modulated by temperature and that it is a consequence, at least in part, of the temperature-sensitive expression of the *bab* locus genes that repress them.

Keywords: plasticity, insects, gene expression, thermal plasticity

Introduction

On estime qu'en nombre d'espèces, les insectes représentent 85 % du règne animal. Ils se sont adaptés à de nombreux environnements et jouent un rôle majeur dans les écosystèmes terrestres, sur terre ou en eau douce. Quelques espèces vivent même en milieu marin. Certaines espèces ont un impact négatif sur les activités humaines (parasites, vecteurs de maladies, insectes ravageurs des cultures). En revanche, d'autres sont de précieux auxiliaires (insectes pollinisateurs, prédateurs ou parasites d'insectes ravageurs) et ont même été domestiquées (abeille, vers à soie) ou sont des modèles de laboratoire fondamentaux pour la recherche, étant donné le niveau de conservation des gènes et des processus moléculaires chez les métazoaires (drosophile). Certaines adaptations des

insectes impliquent de la plasticité phénotypique (Simpson *et al.*, 2011), « l'aptitude d'un génotype donné à produire des phénotypes distincts en réponse à des conditions environnementales différentes » (Pigliucci, 2001). De nombreux facteurs environnementaux peuvent en effet induire des phénotypes particuliers chez certains insectes : facteurs biotiques (densité des populations, nutrition, nature de la plante hôte...) ou abiotiques (température, photopériode...). Dans cet article, je décrirai quelques cas, pris dans la littérature scientifique, de plasticité phénotypique chez des insectes puis je présenterai les résultats des travaux menés dans notre équipe sur la plasticité thermique de la pigmentation chez la drosophile, la petite mouche du vinaigre.

Formes ailées et aptères chez les pucerons

Les pucerons montrent un polyphénisme particulier : on observe en effet des individus aptères et des individus

*Auteur correspondant :

Jean-Michel.Gibert@sorbonne-universite.fr

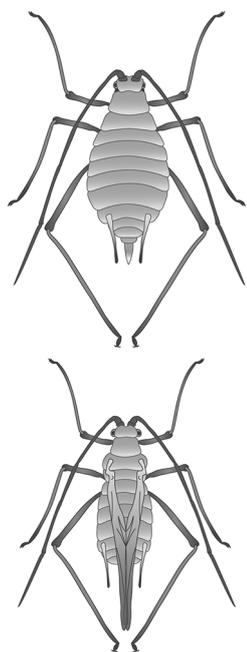


Figure 1. Formes aptère (haut) et ailée (bas) du puceron du pois, *Acyrthosiphon pisum*, (d'après [Simpson et al., 2011](#)). C'est la densité de la population qui induit le passage de la forme aptère à la forme ailée.

ailés ([Braendle et al., 2006](#)). Les femelles aptères ont une fécondité élevée et produisent de nombreux individus aptères. Lorsque la densité des colonies atteint un certain seuil, elles se mettent à produire des individus ailés qui vont se disperser pour former des colonies ailleurs. Les morphes ailés diffèrent des morphes aptères non seulement par leurs ailes et des muscles du vol fonctionnels mais également par une sclérotisation plus épaisse de la tête et du thorax, par des yeux composés plus développés, des ocelles, des antennes plus longues ([Figure 1](#)). Ce sont les conditions environnementales (principalement la densité des colonies, mais également la température et la photopériode) qui sont responsables de ce polyphénisme observé chez les femelles. De façon intéressante, on observe également des mâles ailés et des mâles aptères chez le puceron du pois, mais dans ce cas cette différence est génétique. Elle est le fruit de la variation génétique du locus *aphicarus* localisé sur le chromosome X ([Braendle et al., 2005](#)). Il vient juste d'être montré que l'allèle responsable de l'absence d'ailes chez certains mâles correspond à une duplication de 120kb contenant le gène *folliculin* ([Li et al., 2020](#)). Une étude récente montre que la voie insuline est impliquée dans la plasticité phénotypique des ailes chez le puceron du pois ([Grantham et al., 2019](#)). Cette voie est moins active chez les embryons destinés à donner des adultes aptères. D'autre part, la voie ecdysone est moins active chez les femelles produisant des individus ailés ([Vellichirammal et al., 2017](#)).

Les phases du criquet migrateur

Le criquet migrateur, *Locusta migratoria*, montre un polyphénisme sous la forme de deux phases, la phase solitaire et la phase grégaire ([Figure 2](#)), qui diffèrent en particulier par la pigmentation : la forme solitaire est verte et cryptique tandis que la forme grégaire est fortement mélanisée et forme des essaims qui ont un impact catastrophique sur les cultures. C'est la densité de population qui induit le changement de phase de la forme solitaire à la forme grégaire *via* les contacts physiques entre individus et la perception visuelle des congénères ([Roessingh et al., 1998](#) ; [Simpson et al., 2001](#)). On sait qu'une hormone, la corazonine, est impliquée dans le changement de phase : son injection chez la forme solitaire induit la phase grégaire et son inactivation empêche le changement de phase ([Sugahara et al., 2015](#)). Par ailleurs, des mutations spontanées du gène codant la corazonine ou son récepteur chez différentes espèces de criquets conduisent à un phénotype albinos ([Sugahara et al., 2017](#)).

Les polyphénismes du papillon carte géographique

La carte géographique, *Araschnia levana*, est un petit papillon couramment observé en Europe et en France en particulier. Il pond sur les orties et présente plusieurs générations par an. On observe des morphes avec des pigmentations des ailes très différentes au printemps et en été ([Figure 3](#)). C'est principalement la photopériode et dans une moindre mesure la température qui déterminent ces phénotypes ([Reinhardt, 1984](#)). En effet, lorsque les larves se développent en période de jours longs, les adultes émergeant après métamorphose montreront le phénotype de la forme d'été. En revanche, lorsque les larves se développent en période de jours courts en fin d'été, la chrysalide entrera en diapause et l'adulte émergeant au printemps montrera la forme printanière. On sait que l'ecdysone joue un rôle majeur dans ce polyphénisme ([Koch & Bückmann, 1987](#)). En effet, le pic de cette hormone n'a pas lieu au même moment au cours du développement pupal de la forme d'été et de la forme de printemps et la manipulation de cette hormone affecte le patron de pigmentation des ailes.

Epigénétique et polyphénismes chez l'abeille

Chez l'abeille, la reine et les ouvrières sont génétiquement identiques, mais seules les reines développent des ovaires fonctionnels et peuvent se reproduire. Elles sont, par ailleurs, plus grandes et vivent plus longtemps. C'est la nutrition qui détermine la différence entre ces deux castes. En effet, seules les larves destinées à être reines sont nourries avec de la gelée royale à un stade particulier du développement. Il a été montré que la méthylation de l'ADN est impliquée dans ce polyphénisme. En effet, l'inactivation par ARN interférant (ARNi) du gène codant la *dnmt3*, une enzyme méthylant l'ADN chez des larves

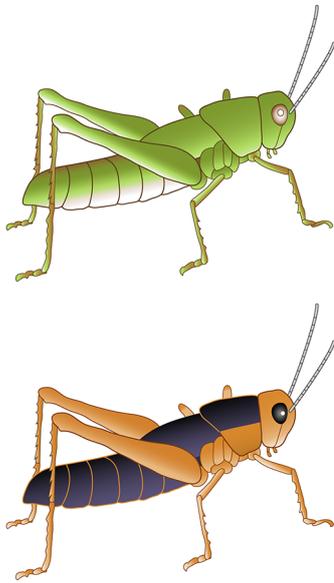


Figure 2. Phases solitaire (haut) et grégaire (bas) du criquet migrateur, *Locusta migratoria*, (d'après [Simpson et al., 2011](#)). C'est la densité des populations qui induit le changement de la phase solitaire à la phase grégaire.

destinées à devenir des ouvrières, conduit au développement d'adultes avec des ovaires bien formés ([Kucharski et al., 2008](#)). La méthylation de l'ADN est donc impliquée dans le développement du phénotype « ouvrière ». L'analyse de la méthylation de l'ADN dans le cerveau des reines et des ouvrières montre que plus de 550 gènes sont différemment méthylés et que ce phénomène est corrélé avec des différences d'expression d'isoformes particulières ([Lyko et al., 2010](#)). De plus, parmi les gènes dont l'ADN est différemment méthylé chez les larves d'ouvrières et de reines, on trouve des gènes impliqués dans les voies de signalisation de l'hormone juvénile et de l'insuline, deux hormones impliquées dans les différences entre castes ([Foret et al., 2012](#)). Par ailleurs, il a été montré que la gelée royale contient des molécules agissant comme inhibiteurs des histones déacétylases ([Spannhoff et al., 2011](#)). Pour le moment, on ne comprend pas bien comment la gelée royale inhibe la méthylation de l'ADN. Un mécanisme possible impliquerait l'inhibition des histones déacétylases, l'hyperméthylation des histones induisant une hypométhylation de l'ADN à certains loci.

Plasticité nutritionnelle chez la drosophile

La carence nutritionnelle entraîne une réduction de la taille chez la drosophile mais, de façon intéressante, les différents organes ne réagissent pas de la même façon. Ainsi, lorsque l'on nourrit moins des larves de drosophiles, les adultes qui émergeront après métamorphose seront globalement plus petits, mais la taille des ailes sera beaucoup plus réduite que celle des pièces génitales mâles ([Tang et al., 2011](#)) ([Figure 4A](#)). On sait que l'effet de la nutrition sur la croissance est médié principalement par la voie de signalisation de l'insuline. En conditions nutritionnelles

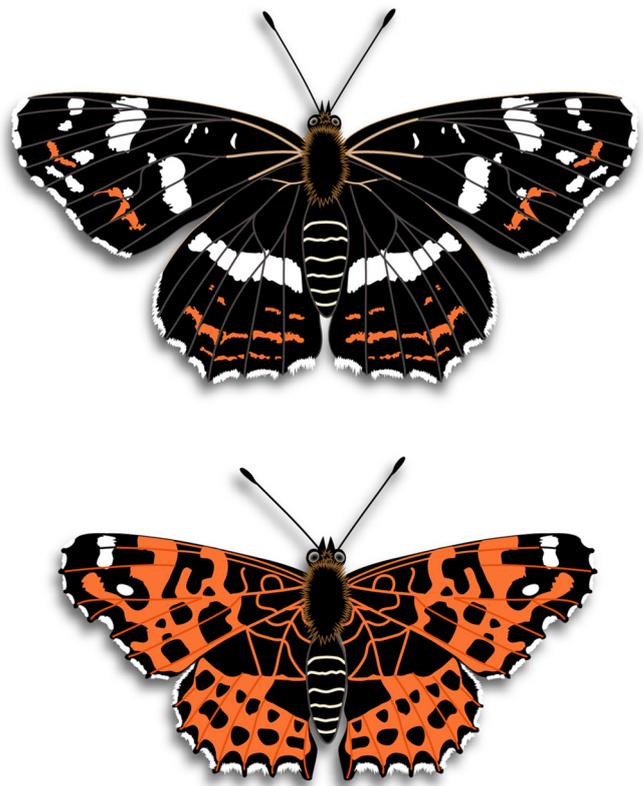


Figure 3. Polyphénisme chez la carte géographique, *Araschnia levana*. Les formes d'été (haut) et de printemps (bas) sont induites par les différences de photopériode.

favorables, des *Drosophila insulin-like peptides* (Dilps) se lient au récepteur de l'insuline (InR), induisant une cascade de phosphorylations qui active la kinase Akt. Celle-ci phosphoryle Foxo, un inhibiteur de la croissance, ce qui l'inactive en le séquestrant dans le cytoplasme. En conditions nutritionnelles réduites, la voie de signalisation de l'insuline est moins active, ce qui conduit à l'activation de Foxo qui va aller réguler ses cibles dans le noyau et réduire la croissance. [Tang et al.](#) ont analysé chez les larves les conséquences de l'inactivation de la voie insuline dans les tissus précurseurs de l'aile et des pièces génitales mâles, le disque imaginal d'aile et le disque imaginal génital, stade auquel a lieu l'essentiel de la croissance de ces tissus. Pour cela, ils ont généré des clones contrôles (sauvages) ou des clones homozygotes mutants pour les gènes codant le récepteur de l'insuline ou Akt dans le disque imaginal d'aile et le disque imaginal génital ([Figure 4B](#)). Dans le disque imaginal d'aile, les clones mutants ont une taille réduite par rapport aux clones contrôles, ce qui indique que l'inactivation de la voie insuline réduit fortement la croissance. En revanche, dans le disque imaginal génital, les clones mutants et les clones contrôles ont des tailles relativement comparables. En principe, quand la voie insuline est inactivée, on s'attend à ce que Foxo réduise la croissance, ce qui ne semble pas être le cas dans le disque génital. Les auteurs ont alors mesuré l'expression de *foxo* dans les deux disques et montré que *foxo* est exprimé beaucoup plus

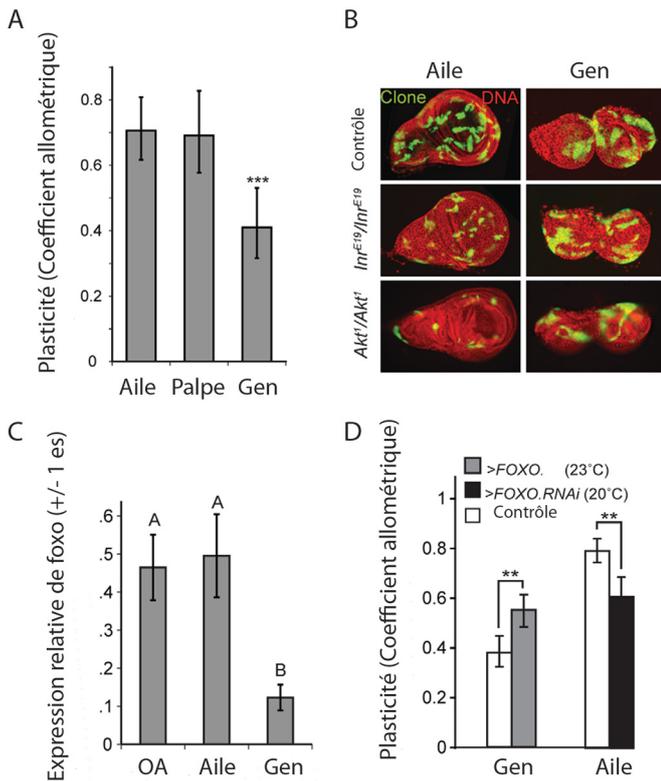


Figure 4. L'expression réduite de *foxo* dans le disque imaginal génital explique la plasticité nutritionnelle réduite des *genitalia* mâles chez la drosophile. A : Plasticité nutritionnelle de la taille de l'aile, du palpe maxillaire (Palpe, une pièce buccale) et des *genitalia* mâles (Gen). B : Clones de cellules contrôles ou mutantes pour des composants de la voie insuline (*Akt* ou *Inr*) dans le disque imaginal d'aile ou le disque imaginal génital. C : Expression relative de *foxo* dans le disque d'œil-antenne (OA), le disque imaginal d'aile et le disque imaginal génital (Gen). D : Plasticité nutritionnelle de la taille de *genitalia* contrôles ou surexprimant *foxo* et de celle d'ailes contrôles ou dans lesquelles l'expression de *foxo* est diminuée. (Reproduit de Tang *et al.*, 2011).

faiblement dans le disque imaginal génital que dans le disque imaginal d'aile (Figure 4C). Cette expression faible de *foxo* pourrait donc expliquer la croissance normale des clones dans lesquels la voie insuline est inactivée dans le disque imaginal génital. Pour le tester, les auteurs ont manipulé l'expression de *foxo* (Figure 4D). La diminution de l'expression de *foxo* dans le disque d'aile a réduit sa plasticité nutritionnelle. Inversement, l'augmentation de l'expression de *foxo* dans le disque génital a augmenté sa plasticité nutritionnelle (Figure 4D). Ces expériences démontrent donc que la différence de plasticité nutritionnelle de la taille des ailes et des pièces génitales mâles est due à une expression différente de *foxo* dans les tissus précurseurs de ces organes.

Plasticité des ocelles sur les ailes du papillon *Bicyclus anynana*

Chez le papillon africain *Bicyclus anynana* on observe des formes saisonnières différant, en particulier, par la

pigmentation des ailes. Des ocelles sont visibles sur la face ventrale de l'aile postérieure chez la forme de la saison humide, alors qu'ils sont quasiment absents chez la forme de la saison sèche. Sur la face ventrale de l'aile antérieure un ocelle postérieur est présent chez les deux formes tandis qu'un ocelle antérieur, plus petit, est plastique. Les formes de la saison humide ou de la saison sèche peuvent être produites au laboratoire en appliquant pendant le développement des papillons une température respectivement de 27°C ou de 17°C. L'hormone ecdysone est impliquée dans ce cas de plasticité phénotypique. Le titre d'ecdysone est plus élevé à 27°C qu'à 17°C et la manipulation de la voie ecdysone pendant le développement affecte le développement des ocelles, mais beaucoup plus sur l'aile postérieure (Monteiro *et al.*, 2015) (Figure 5). À 17°C, l'injection d'ecdysone augmente significativement, mais faiblement, la taille de l'ocelle postérieur sur l'aile antérieure (Figure 5A). À 27°C, l'injection d'un inhibiteur de la voie ecdysone n'a pas d'effet sur cet ocelle (Figure 5A). À 17°C, l'injection d'ecdysone génère sur l'aile postérieure le phénotype normalement observé à 27°C (grands ocelles) (Figure 5B). Inversement, à 27°C, l'injection d'un inhibiteur de la voie ecdysone génère sur l'aile postérieure le phénotype normalement observé à 17°C (ocelles fortement réduits) (Figure 5B). La sensibilité à la voie ecdysone est donc très différente pour les ocelles de l'aile postérieure et l'ocelle postérieur de l'aile antérieure. Les auteurs ont pu relier ce phénomène à une expression différente du récepteur de l'ecdysone. En effet, il n'est pas exprimé dans l'ocelle postérieur présomptif de l'aile antérieure mais exprimé nettement dans les ocelles présomptifs de l'aile postérieure.

Plasticité thermique de la pigmentation chez la drosophile

Une température basse pendant le développement induit une plus forte mélanisation de la cuticule chez plusieurs espèces d'insectes d'ordres différents (hémiptères, orthoptères, diptères, coléoptères) (Holloway *et al.*, 1997; Michie *et al.*, 2010; Fedorka *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2016; Sibilja *et al.*, 2018). On pense que cette plasticité thermique de la pigmentation est adaptative. En effet, les individus plus foncés se réchauffent plus vite au soleil et cela augmente leur activité (Watt, 1969; Jong *et al.*, 1996; Kuyucu *et al.*, 2018; Sibilja *et al.*, 2018; Zverev *et al.*, 2018). Un effet de la température sur la pigmentation est également observé chez la drosophile *Drosophila melanogaster* chez laquelle la pigmentation abdominale des femelles est sensible à la température pendant le développement, en particulier dans la région postérieure (Gibert *et al.*, 2000) (Figure 6). La drosophile étant un modèle de laboratoire depuis plus d'une centaine d'années et pour laquelle on dispose de nombreux outils génétiques, elle est particulièrement appropriée pour décrypter les mécanismes de la plasticité thermique de la pigmentation. Afin de nous focaliser tout d'abord sur l'effet de la température, nous avons utilisé une lignée

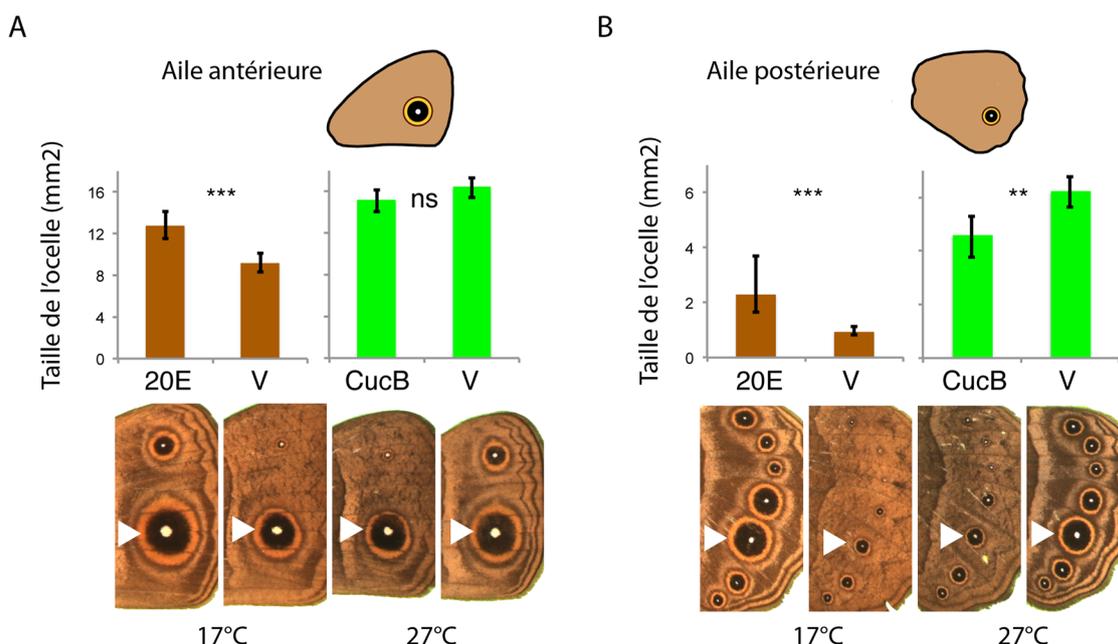


Figure 5. Effet de la manipulation de la voie ecdysone sur la taille des ocelles des ailes antérieure (A) ou postérieure (B) de la forme de la saison sèche (produite à 17°C) ou de la saison humide (produite à 27°C) du papillon *Bicyclus anymana*. 20E : injection d'ecdysone. V : Condition contrôle (injection de solvant seul). CucB : Injection d'un antagoniste du récepteur de l'ecdysone (Cucurbitacin B). (Reproduit de Monteiro *et al.*, 2015).

isogénique (w^{1118}) Pour identifier les réseaux de gènes médiant l'effet de la température sur la pigmentation abdominale des femelles, nous nous sommes tout d'abord intéressés aux gènes de structure directement impliqués dans la pigmentation : les gènes codant les enzymes de la voie de synthèse des pigments de la cuticule (Figure 7A). La pigmentation des drosophilidés est utilisée comme modèle pour étudier les mécanismes de l'évolution et il a été montré que les différences de pigmentation entre mâles et femelles ou entre espèces différentes sont dues à des différences dans la régulation spatiale de l'expression de ces gènes (Massey & Wittkopp, 2016). Selon les cas, ces gènes s'expriment durant la deuxième moitié du développement pupal ou chez les jeunes adultes juste après l'éclosion. Nous avons donc analysé l'expression de ces gènes dans l'épiderme abdominal postérieur de pupes femelles et de jeunes femelles (disséquées juste après l'émergence, lorsqu'elles sont sur le point de se pigmenter) développées à 18°C ou à 29°C pour voir si leur expression était modulée par la température. Nous avons montré que chez les pupes, l'expression des gènes *tan*, *ebony*, *black*, *yellowet* *Ddc* est modérément modulée par la température, et que chez les jeunes adultes, l'expression du gène *tan* est très fortement modulée par la température (Gibert *et al.*, 2016) (Figure 7B). Ainsi, l'expression de *tan* est sept fois plus élevée à 18°C qu'à 29°C. Des expériences d'hybridation *in situ* sur les épidermes abdominaux de femelles développées à 18°C ou 29°C ont confirmé la forte modulation par la température de l'expression de *tan* dans l'abdomen postérieur. Le gène *tan* est impliqué dans la synthèse des mélanines (True *et al.*, 2005). Son expression élevée à 18°C est donc corrélée au phénotype

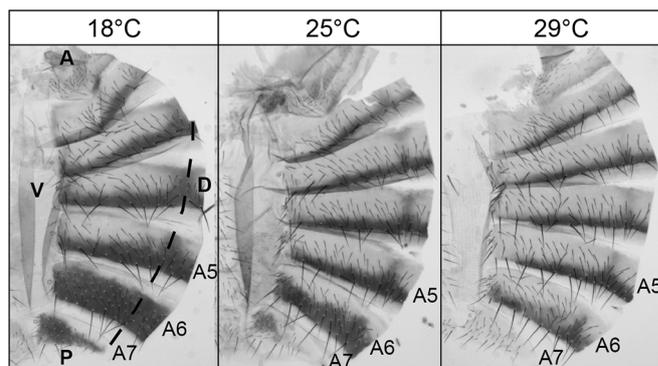


Figure 6. Cuticules abdominales de femelles de *Drosophila melanogaster* génétiquement identiques (lignée isogénique w^{1118}) développées à 18°C, 25°C et 29°C. La pigmentation de l'abdomen postérieur (segments A5, A6 et A7) est très sensible à la température. A : Antérieur ; P : Postérieur ; D : Dorsal ; V : Ventral. (Reproduit de Gibert *et al.*, 2016).

de pigmentation observé. Etant donné la très forte modulation par la température de l'expression de *tan*, nous avons décidé d'étudier plus précisément ce gène. Afin de déterminer l'importance de *tan* dans la plasticité thermique de la pigmentation abdominale des femelles, nous avons manipulé son expression en utilisant le système UAS/Gal4 (Brand & Perrimon, 1993) (Figure 8). À 18°C, l'abdomen postérieur des femelles est très sombre. La diminution de l'expression de *tan*, obtenue en utilisant un transgène *UAS-RNAi-tan* à 18°C, conduit à une forte baisse de la mélanine, ce qui indique que la forte expression de *tan* à 18°C est requise pour la pigmentation sombre normalement observée à cette température. Inversement,

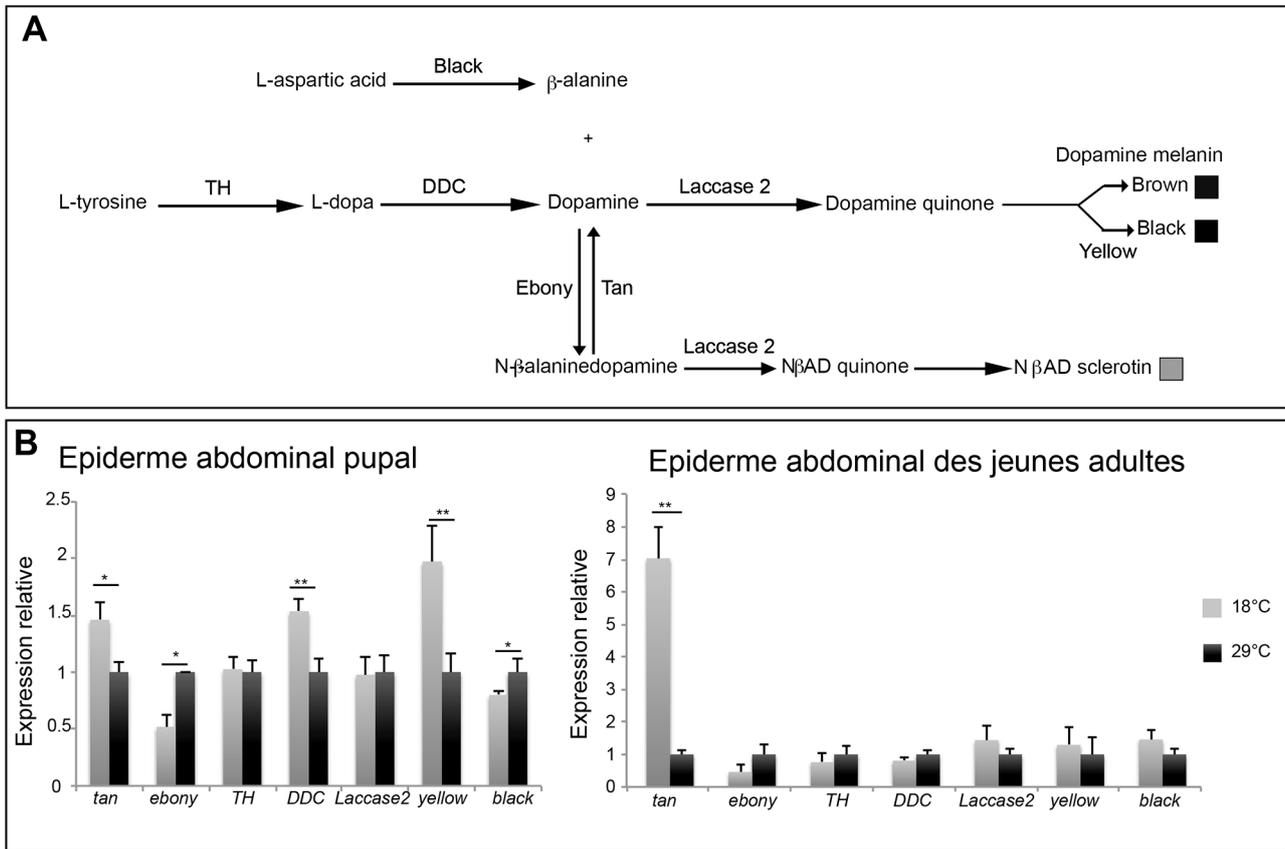


Figure 7. L'expression de certains des gènes codant des enzymes de la voie de synthèse des pigments de la cuticule est modulée par la température. A : Voie de synthèse des pigments de la cuticule. B : Expression relative des gènes codant ces enzymes dans l'épiderme abdominal de pupes femelles ou de jeunes femelles développées à 18 °C ou 29 °C. L'expression relative a été normalisée à 1 pour 29 °C. (Reproduit de [Gibert et al., 2016](#)).

à 29 °C, la pigmentation de l'abdomen des femelles est très claire. La surexpression de *tan* dans l'épiderme abdominal, obtenue en utilisant une lignée *UAS-tan*, induit une forte production de mélanine. Ceci indique que l'expression endogène de *tan* à 29 °C est limitante pour la pigmentation. Ainsi, la modulation par la température de l'expression de *tan* joue un rôle majeur dans la plasticité thermique de la pigmentation abdominale des femelles de *Drosophila melanogaster*. Pour confirmer ce rôle important de *tan*, nous avons comparé les normes de réaction de femelles *w¹¹¹⁸* et mutantes pour *tan* (allèle perte de fonction de *tan* introgressé dans le fond *w¹¹¹⁸*). L'analyse a indiqué des effets significatifs du génotype, de la température et de l'interaction génotype x température, confirmant ainsi un rôle majeur de *tan* dans la plasticité de la pigmentation abdominale des femelles de *Drosophila melanogaster*. Le laboratoire de Sean Carroll a identifié l'*enhancer* dirigeant l'expression de *tan* dans l'épiderme abdominal postérieur des mâles de *Drosophila melanogaster* appelé *t_MSE* ([Jeong et al., 2008](#)). Nous avons utilisé leur lignée transgénique avec la « nuclear enhanced green fluorescent protein » (nEGFP) sous le contrôle du *t_MSE* pour analyser l'activité de cet *enhancer* dans l'épiderme abdominal de femelles développées à 18 °C et à 29 °C. Nous avons observé que cet *enhancer* est actif chez les femelles et que son activité est bien plus forte à 18 °C qu'à

29 °C. Ainsi, l'effet de la température sur l'expression de *tan* passe au moins en partie par cet *enhancer*. Nous avons voulu savoir comment la température pouvait moduler l'activité de cet *enhancer*. On sait que les conditions environnementales peuvent modifier l'expression des gènes ([Zhou et al., 2012](#)) en modulant des processus épigénétiques tels que la compaction de la chromatine ([Leung et al., 2014](#)), la méthylation de l'ADN ([Kucharski et al., 2008](#)) ou le dépôt de marques d'histones ([Simola et al., 2016](#)). La méthylation de l'ADN étant absente chez la drosophile, nous sommes focalisés sur la compaction de la chromatine et la marque d'histone caractéristique des *enhancers* actifs H3K27ac dans l'épiderme abdominal postérieur des jeunes femelles. Nous avons utilisé comme contrôle négatif un *enhancer* du gène *vestigial* (*vg*) non exprimé dans l'épiderme abdominal. Pour analyser la compaction de la chromatine, nous avons utilisé la technique de *Formaldehyde-Assisted-Isolation-of-Regulatory-Element* (FAIRE) suivie de qPCR ([Giresi et al., 2007](#); [McKay & Lieb, 2013](#)). Nous avons pu mettre en évidence que le *t_MSE* avait une structure ouverte comparée à celle de l'*enhancer* de *vg* ([Gibert et al., 2016](#)). En revanche, contrairement à ce qui était attendu, nous n'avons pas observé une ouverture plus grande de l'*enhancer* *t_MSE* à 18 °C qu'à 29 °C. De même, en utilisant des immunoprécipitations de chromatine (ChIP),

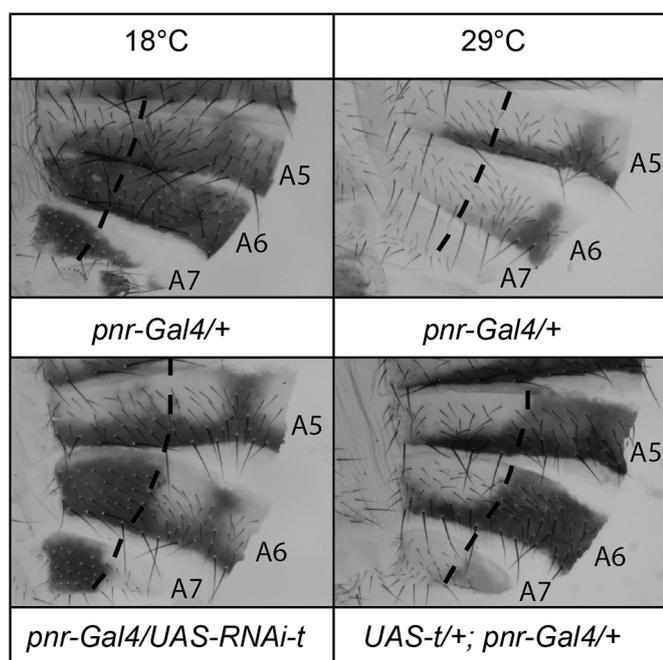


Figure 8. La réduction de l'expression de *tan* à 18°C diminue fortement la pigmentation, tandis que la surexpression de *tan* à 29°C augmente sensiblement la pigmentation. Le pilote *pnr-Gal4* s'exprime dans la région dorsale, à droite de la ligne hachurée. Les régions latérales servent donc de contrôle interne. (Reproduit de Gibert *et al.*, 2016).

nous avons observé un dépôt plus important de la marque activatrice H3K27ac sur le *t_MSE* que sur l'*enhancer* de *vg*, mais nous n'avons pas observé un dépôt plus important de cette marque à 18°C qu'à 29°C. Il est possible que cette absence de différence de structure de la chromatine au niveau du *t_MSE* à 18°C et à 29°C s'explique par une saturation de H3K27ac et de l'ouverture de la chromatine, l'*enhancer* étant actif aux deux températures (même s'il l'est beaucoup plus à 18°C). Nous nous sommes alors demandé si d'autres régions de *tan* pouvaient être modulées par la température. Nous avons analysé la marque activatrice H3K4me3 au niveau du promoteur de *tan*. Toujours par ChIP sur des épidermes abdominaux de jeunes femelles développées à 18°C ou 29°C, nous avons pu montrer que la marque H3K4me3 était fortement modulée par la température sur le promoteur de *tan*. Il est intéressant de noter que la marque H3K4me3 est également modifiée par les conditions environnementales chez d'autres modèles : stress hydrique chez les plantes (van Dijk *et al.*, 2010; Zong *et al.*, 2013), stress chimique chez la levure (Weiner *et al.*, 2012), nutrition riche en graisse dans le foie de souris (Börsch-Haubold *et al.*, 2014). H3K4me3 apparaît donc ainsi comme une marque d'histone particulièrement impliquée dans la réponse à l'environnement. Nous avons alors cherché à identifier les gènes impliqués dans le dépôt de cette marque sur le promoteur de *tan*. Il existe trois complexes impliqués dans la méthylation de la lysine4 de l'histone H3 chez la drosophile, différant par leur unité catalytique qui peut être Trithorax, Trithorax-related ou Set1 (Mohan *et al.*,

2011). Nous avons testé l'implication de ces complexes dans la pigmentation abdominale par RNAi contre *Trithorax*, *Trithorax-related* et *Set1* et montré que seul *Trithorax* était requis pour la production de mélanine. Nous avons ensuite analysé le rôle de *Trithorax* sur la régulation de *tan*. Nous avons pu montrer par ChIP que *Trithorax* était requis pour le dépôt de la marque H3K4me3 sur le promoteur de *tan* et par RT-qPCR que *Trithorax* était requis pour l'expression de *tan*. Ainsi, l'ensemble de ces expériences nous a permis d'identifier *tan* comme un gène majeur impliqué dans la plasticité thermique de la pigmentation abdominale des femelles de *Drosophila melanogaster*. De façon intéressante, l'expression de *tan* est également fortement modulée par les conditions environnementales dans les ailes du papillon *Junonia coenia*, une espèce présentant des morphes saisonniers très contrastés (Daniels *et al.*, 2014). *tan* semble donc être un gène tout particulièrement impliqué dans la plasticité de la pigmentation chez les insectes.

Un des autres gènes codant une enzyme de pigmentation, pour lequel nous avons montré que son expression était modulée par la température chez les pupes (mais seulement environ deux fois), est le gène *yellow* (Gibert *et al.*, 2016). Nous avons décidé d'analyser le rôle de ce gène dans la plasticité thermique de la pigmentation abdominale des femelles de *Drosophila melanogaster*. Le gène *yellow* s'exprimant dans les pupes, nous avons analysé son expression dans l'épiderme abdominal de pupes femelles *w¹¹¹⁸* développées à 18°C ou à 29°C par hybridation *in situ*. Nous avons observé que la température modulait l'expression spatio-temporelle de *yellow* dans l'épiderme abdominal, mais pas dans les cellules des soies présentes sur les segments abdominaux qui expriment fortement *yellow* (Gibert *et al.*, 2017). De façon intéressante, on sait que l'expression de *yellow* dans les cellules des soies et dans l'épiderme abdominal est sous le contrôle d'*enhancers* distincts : l'expression de *yellow* dans les cellules des soies est contrôlée par un *enhancer* localisé dans le grand intron de *yellow*, tandis que l'expression de *yellow* dans l'épiderme abdominal est contrôlée par un *enhancer* localisé 3kb en amont du site d'initiation de la transcription de *yellow*, le *wing-body-enhancer* (*wb-enhancer*) (Jeong *et al.*, 2006; Kalay & Wittkopp, 2010). Nous avons analysé l'activité du *wb-enhancer* à différentes températures en utilisant des lignées transgéniques avec la nEGFP sous le contrôle du *wb-enhancer* (Jeong *et al.*, 2006). Nous avons observé que la nEGFP mimait la sensibilité à la température de l'expression de *yellow* dans le segment A7. Il semble donc qu'une partie de l'effet de la température passe par le *wb-enhancer*. En revanche, alors que l'expression de *yellow* est clairement modulée par la température dans les segments A6 et A5, la nEGFP ne mime pas cet effet (elle montre même un effet opposé pour A5). Il est probable que des séquences régulatrices du locus *yellow* non présentes dans le transgène expliquent cette différence. On sait, en effet, que le locus *yellow* est dans un environnement très particulier. Il est localisé près du télomère du chromosome X, une région avec des propriétés particulières telles qu'un

taux de recombinaison réduit et une faible variation génétique (Munté *et al.*, 1997). De plus, *yellow* est bordé par un site de fixation pour la protéine insulatrice Su(Hw) (Golovnin *et al.*, 2003). Par ailleurs, on sait aussi que l'expression de *yellow* seule n'est pas suffisante pour induire la production de mélanine (Wittkopp *et al.*, 2002). Pour induire cet effet, il faut simultanément réduire l'expression d'*ebony* ou induire celle de *tan* (Wittkopp *et al.*, 2002; Jeong *et al.*, 2008).

Pour voir dans quelle mesure la plasticité thermique de la pigmentation abdominale des femelles de *Drosophila melanogaster* pouvait impliquer une synergie entre *yellow* et *tan*, nous avons comparé les effets sur la pigmentation de la cuticule abdominale de la surexpression de *yellow* seul, de *tan* seul, ou des deux à la fois, à 29 °C. Nous avons observé que la surexpression des deux gènes induisait une pigmentation beaucoup plus sombre, mimant le phénotype observé à 18 °C. Nous en avons donc conclu que la modulation de l'expression de *yellow* contribuait à la plasticité thermique de la pigmentation abdominale, mais que *tan* jouait un rôle essentiel (Gibert *et al.*, 2017). Ainsi, la plasticité thermique de la pigmentation abdominale des femelles résulte de la modulation par la température de différents gènes à des stades développementaux distincts.

Dans les expériences décrites dans les paragraphes précédents, nous avons utilisé un seul fond génétique comme fond sauvage, la lignée isogénique *w¹¹¹⁸* pour nous focaliser sur l'effet de la température. Cependant, il existe une variation génétique importante pour la pigmentation abdominale des femelles de *Drosophila melanogaster* dans les populations naturelles (Kopp *et al.*, 2003; Bastide *et al.*, 2013; Rogers *et al.*, 2013; Dembeck *et al.*, 2015). Afin d'analyser comment variation génétique et environnementale s'intègrent pour produire le phénotype de pigmentation abdominale, nous avons pris en compte ces deux sources de variation. À partir d'une population échantillonnée au Canada (Yeaman *et al.*, 2010) dans laquelle nous avons observé du polymorphisme génétique pour la pigmentation abdominale des femelles, nous avons établi par sélection artificielle deux lignées différant par la pigmentation abdominale que nous avons appelées *Dark* et *Pale* (De Castro *et al.*, 2018). Nous les avons fait se développer à 18 °C, 25 °C et 29 °C et avons quantifié leur pigmentation pour tracer leurs normes de réaction (Figure 9).

L'analyse des données obtenues a mis en évidence des effets importants de la température, du génotype mais également des interactions génotype x température significatives (seulement pour les segments A6 et A7). Ainsi, les deux lignées ont une pigmentation différente, sont plastiques mais ont des plasticités distinctes. Tout d'abord, nous avons cherché à identifier les contributions des différents chromosomes à la divergence de pigmentation observée entre les deux lignées. Pour cela, nous avons construit 8 lignées, chacune portant une combinaison particulière des chromosomes X, II et III des lignées *Dark* et *Pale*. Un effet très puissant du chromosome III était évident à l'œil nu. La quantification et l'analyse de la pigmentation des segments A4, A5, A6 et A7 a confirmé

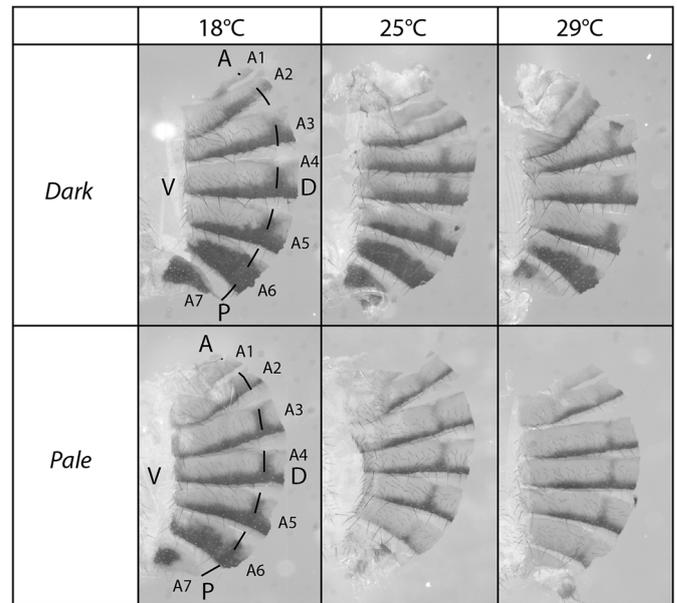


Figure 9. Cuticule abdominale de femelles de la lignée *Dark* et de la lignée *Pale* développées à 18 °C, 25 °C et 29 °C. (Reproduit de De Castro *et al.*, 2018).

cet effet très important du chromosome III en particulier pour les segments les plus postérieurs (*Eta squared*: 0,83 pour A6 et A7, 0,29 pour A5 et 0,14 pour A4). En revanche, les effets des chromosomes X et II étaient non significatifs ou très faibles. Un très bon candidat localisé sur le chromosome III est le locus *bric-à-brac* (*bab*), constitué des gènes paralogues *bric-à-brac 1* (*bab1*) et *bric-à-brac 2* (*bab2*), associé précédemment à la variation de la pigmentation abdominale femelle dans les populations naturelles de *Drosophila melanogaster* (Kopp *et al.*, 2003; Bickel *et al.*, 2011; Bastide *et al.*, 2013; Rogers *et al.*, 2013). Afin de tester si de la variation génétique liée au locus *bab* était impliquée dans la différence de pigmentation observée entre les lignées *Dark* et *Pale*, nous avons génotypé pour le locus *bab* et phénotypé pour la pigmentation abdominale 40 individus d'une F2 issue d'un croisement initial entre des femelles *Dark* et des mâles *Pale*. Pour génotyper ces individus au locus *bab*, nous avons recherché du polymorphisme à ce locus. Nous avons amplifié et séquencé une région régulatrice localisée dans l'intron de *bab1*, le *dimorphic cis-regulatory element*, qui dirige l'expression de *bab1* et *bab2* dans l'épiderme de l'abdomen postérieur (Williams *et al.*, 2008). Nous avons mis en évidence une délétion de 56 paires de bases dans l'*enhancer* de la lignée *Dark* que nous avons utilisée pour génotyper par PCR les 40 individus F2. L'analyse de ces données a montré une forte association du locus *bab* à la pigmentation dans les segments A6 ($P < 0,001$; *Eta squared*: 0,61) et A7 ($P < 0,001$; *Eta squared*: 0,74) mais pas dans le segment A5 ($p = 0,49$). Les individus homozygotes pour l'allèle de *bab* de la lignée *Dark* sont les plus pigmentés, les individus homozygotes pour l'allèle de *bab* de la lignée *Pale* sont les moins pigmentés et les hétérozygotes ont une pigmentation intermédiaire.

De façon intéressante, la délétion de 56 paires de bases, non observée dans les allèles naturels de *bab* décrits précédemment, élimine deux sites de fixation pour le facteur de transcription Abdominal B (Abd-B), un activateur direct de *bab* (Williams *et al.*, 2008). Il a été montré précédemment que ces deux sites, en combinaison avec 12 autres sites de fixation pour Abd-B présents dans cet *enhancer*, contribuent à l'expression de *bab* dans l'épiderme de l'abdomen postérieur (Williams *et al.*, 2008). Les haplotypes des lignées *Dark* et *Pale* ne diffèrent par ailleurs que par une substitution de nucléotide. Pour tester si la délétion des deux sites Abd-B avait un effet sur l'activité du *dimorphic* CRE nous avons construit des lignées transgéniques ayant la nEGFP sous le contrôle de l'*enhancer* dimorphique de la lignée *Dark* ou de la lignée *Pale*. Les transgènes ont été intégrés dans la même localisation génomique pour éviter des effets de position en utilisant la transgénèse avec l'intégrase PhiC31 (Bischof *et al.*, 2007). Pour détecter un effet éventuel de la température, nous avons mis à développer ces lignées à 18°C et à 29°C. La nEGFP sous le contrôle de ces séquences régulatrices ne s'exprimait que dans les segments A6 et A7. La quantification de la nEGFP dans ces segments a montré que l'*enhancer* dimorphique de la lignée *Dark* est moins actif que celui de la lignée *Pale*. De plus, les deux *enhancers* sont plus actifs à 29°C qu'à 18°C ; *bab* étant un répresseur de la pigmentation, ces activités différentielles sont corrélées aux phénotypes de pigmentation observés.

Pour tester si la différence d'activité entre les *enhancers* dimorphiques des deux lignées était bien due à une modulation de l'activation par Abd-B via la délétion des deux sites de fixation, nous avons conçu une expérience plus complexe dans laquelle nous avons fait varier le génotype de l'*enhancer*, la température et la dose d'*Abd-B*. Pour cela nous avons utilisé une lignée de drosophile portant sur un chromosome III une délétion du locus *Abd-B* et sur l'autre chromosome III une duplication d'*Abd-B*. Cela nous a permis d'obtenir des mouches avec 1,2 ou 3 doses d'*Abd-B* et la nEGFP sous le contrôle de l'*enhancer* dimorphique de la lignée *Dark* ou de la lignée *Pale*. Nous avons placé ces mouches à 18°C et 29°C pendant leur développement. La quantification et l'analyse de la nEGFP dans l'épiderme abdominal a mis en évidence, comme précédemment, un effet du génotype et de la température, mais également un effet de la dose d'*Abd-B*, ce qui était attendu puisque c'est un activateur direct de l'*enhancer* dimorphique. De façon très intéressante, une interaction significative entre la dose d'*Abd-B* et le génotype de l'*enhancer* a été observée. Ceci démontre que la délétion des deux sites de fixation pour *Abd-B* dans l'*enhancer* dimorphique de la lignée *Dark* a un impact fonctionnel détectable sur l'activation de l'*enhancer* par *Abd-B*. De plus, nous avons observé une interaction significative entre la dose d'*Abd-B* et la température, ce qui signifie que la température affecte le rôle d'*Abd-B* sur l'activité de l'*enhancer*. Cependant, nous n'avons pas détecté de modulation par la température de l'expression d'*Abd-B* dans l'épiderme abdominal pupal. Cette interaction significative entre *Abd-B* et la température n'est

donc pas due à une plasticité transcriptionnelle d'*Abd-B*. Il est donc probable que l'effet de la température sur *Abd-B* soit post-transcriptionnel (activité de la protéine, liaison à l'*enhancer*, interaction avec un cofacteur...).

Les effets du génotype et de la température sur l'activité des *enhancers* dimorphiques ont été analysés avec des lignées transgéniques exprimant la nEGFP sous le contrôle de ces séquences régulatrices. Pour analyser si le génotype et la température pouvaient moduler l'expression des gènes *bab1* et *bab2* endogènes, nous avons analysé leur expression dans l'épiderme abdominal postérieur de jeunes femelles adultes et de pupes femelles. Nous avons pu montrer que l'expression de *bab1* et *bab2* était moins forte dans la lignée *Dark* que dans la lignée *Pale* et que l'expression des deux gènes était plus élevée à 29°C qu'à 18°C. Ainsi l'expression des gènes *bab1* et *bab2* est corrélée à l'activité des *enhancers* dimorphiques analysée dans les lignées transgéniques. Nous en avons conclu que la différence d'expression de *bab1* et *bab2* entre les lignées *Dark* et *Pale* était due à la délétion des deux sites de fixation pour Abd-B dans l'*enhancer* dimorphique de la lignée *Dark*. D'autre part, la modulation par la température de l'expression de *bab1* et *bab2* est due, au moins en partie, à la sensibilité à la température de l'activité de l'*enhancer* dimorphique. *bab1* et *bab2* codent des facteurs de transcription. Leur effet sur la pigmentation doit donc être médié par des gènes de structure, en l'occurrence des enzymes impliquées dans la synthèse des mélanines. Il est déjà connu que le locus *bab* régule *yellow* et *Ddc* (Jeong *et al.*, 2006 ; Gibert *et al.*, 2007). Il vient même d'être montré très récemment que cette régulation de *yellow* par *bab* est directe (Roeske *et al.*, 2018). Par ailleurs, étant donné le rôle de *tan* dans la plasticité thermique de la pigmentation que nous avons mis en évidence précédemment (Gibert *et al.*, 2016), il était logique de proposer l'hypothèse selon laquelle *bab* régule *tan*. Pour tester cette hypothèse, nous avons manipulé l'expression de *bab1* par RNAi et examiné les conséquences sur l'expression de *tan* (par hybridation *in situ*) et sur l'activité des séquences régulatrices de *tan* (en utilisant une lignée avec la nEGFP comme rapporteur de l'activité du *t_MSE*). Nous avons observé que la diminution de l'expression de *bab1* entraîne une augmentation de l'expression de *tan* et de l'activité du *t_MSE* (Figure 10). Ainsi, *bab* réprime *tan* et cette répression est médiée, au moins en partie, par l'*enhancer t_MSE*.

Logiquement, puisque *bab* est différemment exprimé entre les lignées *Dark* et *Pale* et modulé par la température dans ces deux lignées, on s'attend à ce qu'il en soit de même pour sa cible *tan*. Nous avons analysé l'expression de *tan* dans les lignées *Dark* et *Pale* développées à 18°C et 29°C par hybridation *in situ* et par RT-qPCR. Nous avons observé, d'une part, que *tan* est plus exprimé dans la lignée *Dark* que dans la lignée *Pale* et, d'autre part, que *tan* s'exprime plus fortement à 18°C qu'à 29°C dans les deux lignées.

Ainsi, nous comprenons mieux comment la température affecte la pigmentation abdominale des femelles de *Drosophila melanogaster* (Figure 11). La température module l'activation de l'*enhancer* dimorphique de *bab* en

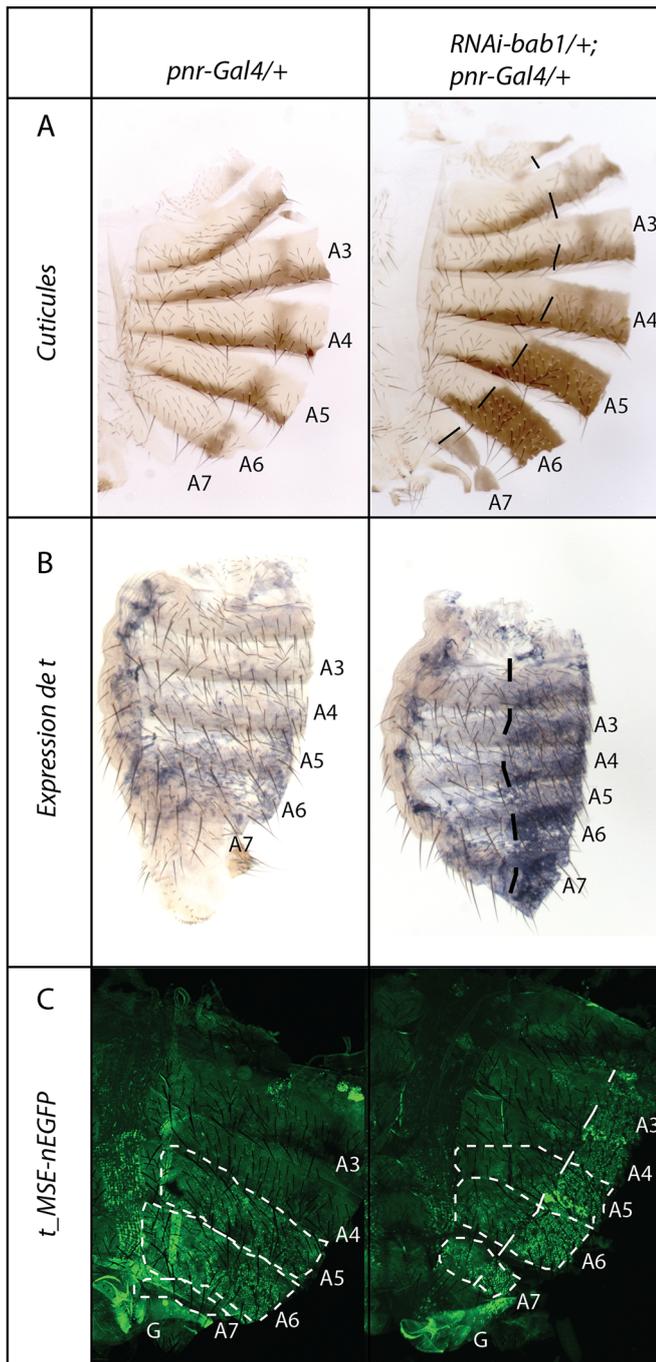


Figure 10. *bab1* réprime *tan*. A : Phénotype de pigmentation de femelles contrôles (*pnr-Gal4/+*) ou exprimant un RNAi contre *bab1* dans la région dorsale (*RNAi-bab1/+; pnr-Gal4/+*). B : Hybridation *in situ* montrant l'expression de *tan* dans l'épiderme abdominal de femelles fraîchement écloses des mêmes génotypes. C : Expression de la nEGFP dirigée par le *t_MSE* dans l'épiderme abdominal de femelles des mêmes génotypes. (Reproduit de De Castro *et al.*, 2018).

partie *via* sa régulation par Abd-B. Il s'ensuit que l'expression de *bab1* et *bab2* est plus forte à température élevée. L'implication du locus *bab* dans la plasticité thermique de la pigmentation abdominale précédemment montrée génétiquement (Gibert *et al.*, 2007) correspond

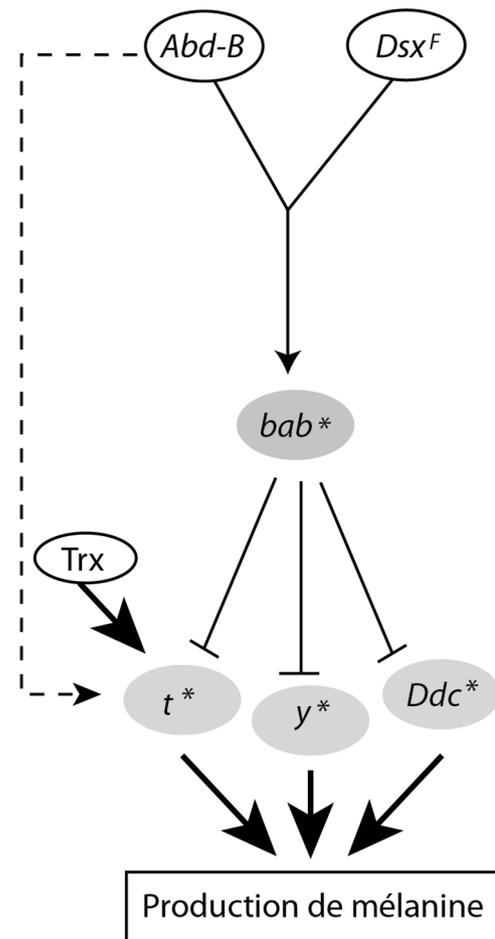


Figure 11. Modèle du réseau de gènes médiant l'effet de la température sur la pigmentation abdominale des femelles (De Castro *et al.*, 2018). L'expression des gènes *bab* augmente à température élevée tandis que celle de *tan*, *yellow* et *Ddc* diminue. Par ailleurs, nous avons montré que Trithorax (Trx) est requis pour l'expression élevée de *tan* à basse température (Gibert *et al.*, 2016).

donc à un effet transcriptionnel. Cet effet de la température sur l'expression de *bab1* et *bab2* a pour conséquence une expression plus faible de *tan* à température élevée. Par ailleurs, Trithorax contribue à l'expression élevée de *tan* à 18°C (Gibert *et al.*, 2016). La sensibilité à la température de l'expression de *yellow* et *Ddc* précédemment montrée est également, au moins en partie, une conséquence de la modulation par la température de l'expression de *bab1* et *bab2*, puisque *yellow* et *Ddc* sont régulés par *bab*.

Il est intéressant de noter que la variation génétique dans le *t_MSE* a été impliquée dans la variation intra- ou interspécifique chez de nombreuses drosophiles du groupe *Melanogaster* (Jeong *et al.*, 2008; Bastide *et al.*, 2013; Dembeck *et al.*, 2015; Endler *et al.*, 2015; Yassin *et al.*, 2016). Il en est de même pour l'*enhancer* dimorphique de *bab* (Rogers *et al.*, 2013). Ainsi, les mêmes séquences régulatrices médient l'effet de l'environnement et accumulent des mutations avec un impact fonctionnel. Il est possible que la sensibilité à la température de ces séquences régulatrices, en diversifiant les phénotypes

produits par un allèle donné, transforme ces locus en *hot-spots* évolutifs en facilitant leur sélection.

Remerciements. Je remercie chaleureusement Sophie Gournet pour ses dessins illustrant les **Figures 1, 2 et 3**. Je remercie également les membres de mon équipe, en particulier Emmanuèle Mouchel-Vielh avec qui je travaille pour décrypter les mécanismes de la plasticité phénotypique chez la drosophile.

Références

- Bastide, H., Betancourt, A., Nolte, V., Tobler, R., Stobe, P., Futschik, A., Schlotterer, C. (2013). A genome-wide, fine-scale map of natural pigmentation variation in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet*, 9, e1003534.
- Bickel, R.D., Kopp, A., Nuzhdin, S.V. (2011). Composite effects of polymorphisms near multiple regulatory elements create a major-effect QTL. *PLoS Genet*, 7, e1001275.
- Bischof, J., Maeda, R.K., Hediger, M., Karch, F., Basler, K. (2007). An optimized transgenesis system for *Drosophila* using germ-line-specific phiC31 integrases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104, 3312-3317.
- Börsch-Haubold, A.G., Montero, I., Konrad, K., Haubold, B. (2014). Genome-wide quantitative analysis of histone H3 lysine 4 trimethylation in wild house mouse liver: environmental change causes epigenetic plasticity. *PloS One*, 9, e97568.
- Braendle, C., Caillaud, M.C., Stern, D.L. (2005). Genetic mapping of *aphicarus* – a sex-linked locus controlling a wing polymorphism in the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Heredity*, 94, 435-442.
- Braendle, C., Davis, G.K., Brisson, J.A., Stern, D.L. (2006). Wing dimorphism in aphids. *Heredity*, 97, 192-199.
- Brand, A.H., Perrimon, N. (1993). Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes. *Development*, 118, 401-415.
- Daniels, E.V., Murad, R., Mortazavi, A., Reed, R.D. (2014). Extensive transcriptional response associated with seasonal plasticity of butterfly wing patterns. *Mol Ecol*, 23, 6123-6134.
- De Castro, S., Peronnet, F., Gilles, J.-F., Mouchel-Vielh, E., Gibert, J.-M. (2018). *bric à brac* (*bab*), a central player in the gene regulatory network that mediates thermal plasticity of pigmentation in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet*, 14, e1007573.
- Dembeck, L.M., Huang, W., Magwire, M.M., Lawrence, F., Lyman, R.F., Mackay, T.F.C. (2015). Genetic architecture of abdominal pigmentation in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet*, 11, e1005163.
- Ender, L., Betancourt, A.J., Nolte, V., Schlotterer, C. (2015). Reconciling differences in Pool-GWAS between populations: A case study of female abdominal pigmentation in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 202, 843-855.
- Fedorka, K.M., Copeland, E.K., Winterhalter, W.E. (2013). Seasonality influences cuticle melanization and immune defense in a cricket: support for a temperature-dependent immune investment hypothesis in insects. *J Exp Biol*, 216, 4005-4010.
- Foret, S., Kucharski, R., Pellegrini, M., Feng, S., Jacobsen, S.E., Robinson, G.E., Maleszka, R. (2012). DNA methylation dynamics, metabolic fluxes, gene splicing, and alternative phenotypes in honey bees. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109, 4968-4973.
- Gibert, J.M., Peronnet, F., Schlotterer, C. (2007). Phenotypic plasticity in *Drosophila* pigmentation caused by temperature sensitivity of a chromatin regulator network. *PLoS Genet*, 3, e30.
- Gibert, J.-M., Mouchel-Vielh, E., De Castro, S., Peronnet, F. (2016). Phenotypic plasticity through transcriptional regulation of the evolutionary hotspot gene *tan* in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet*, 12, e1006218.
- Gibert, J.-M., Mouchel-Vielh, E., Peronnet, F. (2017). Modulation of yellow expression contributes to thermal plasticity of female abdominal pigmentation in *Drosophila melanogaster*. *Sci Rep*, 7, 43370.
- Gibert, P., Moreteau, B., David, J.R. (2000). Developmental constraints on an adaptive plasticity: reaction norms of pigmentation in adult segments of *Drosophila melanogaster*. *Evol Dev*, 2, 249-260.
- Giresi, P.G., Kim, J., McDaniel, R.M., Iyer, V.R., Lieb, J.D. (2007). FAIRE (Formaldehyde-Assisted Isolation of Regulatory Elements) isolates active regulatory elements from human chromatin. *Genome Res*, 17, 877-885.
- Golovnin, A., Biryukova, I., Birukova, I., Romanova, O., Silicheva, M., Parshikov, A., Savitskaya, E., Pirrotta, V., Georgiev, P. (2003). An endogenous Su(Hw) insulator separates the yellow gene from the Achaete-scute gene complex in *Drosophila*. *Dev Camb Engl*, 130, 3249-3258.
- Grantham, M.E., Shingleton, A.W., Dudley, E., Brisson, J.A. (2019). Expression profiling of winged- and wingless-destined pea aphid embryos implicates insulin/insulin growth factor signaling in morph differences. *Evol Dev*, 22, 257-268.
- Holloway, G.J., Marriott, C.G., Crocker, Helen J. (1997). Phenotypic plasticity in hoverflies: the relationship between colour pattern and season in *Episyrphus balteatus* and other Syrphidae. *Ecol Entomol*, 22, 425-432.
- Jeong, S., Rokas, A., Carroll, S.B. (2006). Regulation of body pigmentation by the Abdominal-B Hox protein and its gain and loss in *Drosophila* evolution. *Cell*, 125, 1387-1399.
- Jeong, S., Rebeiz, M., Andolfatto, P., Werner, T., True, J., Carroll, S.B. (2008). The evolution of gene regulation underlies a morphological difference between two *Drosophila* sister species. *Cell*, 132, 783-793.
- Jong, P., Gussekloo, S., Brakefield, P. (1996). Differences in thermal balance, body temperature and activity between non-melanic and melanic two-spot ladybird beetles (*Adalia bipunctata*) under controlled conditions. *J Exp Biol*, 199, 2655-2666.
- Kalay, G., Wittkopp, P.J. (2010). Nomadic enhancers: Tissue-specific cis-regulatory elements of yellow have divergent genomic positions among *Drosophila* species. *PLoS Genet*, 6, e1001222.
- Koch, P.B., Bückmann, D. (1987). Hormonal control of seasonal morphs by the timing of ecdysteroid release in *Arashnia levana* L. (Nymphalidae: Lepidoptera). *J Insect Physiol*, 33, 823-929.
- Kopp, A., Graze, R.M., Xu, S., Carroll, S.B., Nuzhdin, S.V. (2003). Quantitative trait loci responsible for variation in sexually dimorphic traits in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 163, 771-787.
- Kucharski, R., Maleszka, J., Foret, S., Maleszka, R. (2008). Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. *Science*, 319, 1827-1830.
- Kuyucu, A.C., Sahin, M.K., Caglar, S.S. (2018). The relation between melanism and thermal biology in a colour polymorphic bush cricket, *Isophya rizeensis*. *J Therm Biol*, 71, 212-220.
- Leung, A., Parks, B.W., Du, J., Trac, C., Setten, R., Chen, Y., Brown, K., Lusis, A.J., Natarajan, R., Schones, D.E. (2014). Open chromatin profiling in mice livers reveals unique chromatin variations induced by high fat diet. *J Biol Chem*, 289, 23557-23567.
- Li, B., Bickel, R.D., Parker, B.J., Saleh Ziabari, O., Liu, F., Vellichirammal, N.N., Simon, J.-C., Stern, D.L., Brisson, J.A. (2020). A large genomic insertion containing a duplicated follistatin gene is linked to the pea aphid male wing dimorphism. *ELife*, 9, e50608.
- Lyko, F., Foret, S., Kucharski, R., Wolf, S., Falckenhayn, C., Maleszka, R. (2010). The honey bee epigenomes: differential

- methylation of brain DNA in queens and workers. *PLoS Biol*, 8, e1000506.
- Massey, J.H., Wittkopp, P.J. (2016). The genetic basis of pigmentation differences within and between *Drosophila* species. *Curr Top Dev Biol*, 119, 27-61.
- McKay, D.J., Lieb, J.D. (2013). A common set of DNA regulatory elements shapes *Drosophila* appendages. *Dev Cell*, 27, 306-318.
- Michie, L.J., Mallard, F., Majerus, M.E., Jiggins, F.M. (2010). Melanic through nature or nurture: genetic polymorphism and phenotypic plasticity in *Harmonia axyridis*. *J Evol Biol*, 23, 1699-1707.
- Mohan, M., Herz, H.-M., Smith, E.R., Zhang, Y., Jackson, J., Washburn, M.P., Florens, L., Eissenberg, J.C., Shilatifard, A. (2011). The COMPASS family of H3K4 methylases in *Drosophila*. *Mol Cell Biol*, 31, 4310-4318.
- Monteiro, A., Tong, X., Bear, A., Liew, S.F., Bhardwaj, S., Wasik, B.R., Dinwiddie, A., Bastianelli, C., Cheong, W.F., Wenk, M.R., Cao H., Prudic K.L. (2015). Differential expression of ecdysone receptor leads to variation in phenotypic plasticity across serial homologs. *PLoS Genet*, 11, e1005529.
- Munté, A., Aguadé, M., Segarra, C. (1997). Divergence of the yellow gene between *Drosophila melanogaster* and *D. subobscura*: recombination rate, codon bias and synonymous substitutions. *Genetics*, 147, 165-175.
- Pigliucci, M., Phenotypic Plasticity, Beyond Nature and Nurture, Baltimore and London, 2001.
- Reinhardt, R., Der Landkärtchenfalter, A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt, 1984.
- Roeske, M.J., Camino, E.M., Grover, S., Rebeiz, M., Williams, T.M. (2018). Cis-regulatory evolution integrated the bric-à-brac transcription factors into a novel fruit fly gene regulatory network. *ELife*, 7, e32273.
- Roessingh, P., Bouaïchi, A., Simpson, S.J. (1998). Effects of sensory stimuli on the behavioural phase state of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *J Insect Physiol*, 44, 883-893.
- Rogers, W.A., Salomone, J.R., Tacy, D.J., Camino, E.M., Davis, K.A., Rebeiz, M., Williams, T.M. (2013). Recurrent modification of a conserved cis-regulatory element underlies fruit fly pigmentation diversity. *PLoS Genet*, 9, e1003740.
- Sharma, A.I., Yanes, K.O., Jin, L., Garvey, S.L., Taha, S.M., Suzuki, Y. (2016). The phenotypic plasticity of developmental modules. *EvoDevo*, 7, 15.
- Sibilia, C.D., Brosko, K.A., Hickling, C.H., Thompson, L.M., Grayson, K.L., Olson, J.R. (2018). Thermal physiology and developmental plasticity of pigmentation in the Harlequin Bug (Hemiptera: Pentatomidae). *J Insect Sci, Online*, 18, 4.
- Simola, D.F., Graham, R.J., Brady, C.M., Enzmann, B.L., Desplan, C., Ray, A., Zwiebel, L.J., Bonasio, R., Reinberg, D., Liebig, J., Berger, S.L. (2016). Epigenetic (re)programming of caste-specific behavior in the ant *Camponotus floridanus*. *Science*, 351, 6268.
- Simpson, S.J., Despland, E., Hägele, B.F., Dodgson, T. (2001). Gregarious behavior in desert locusts is evoked by touching their back legs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98, 3895-3897.
- Simpson, S.J., Sword, G.A., Lo, N. (2011). Polyphenism in insects. *Curr Biol*, 21, R738-749.
- Spannhoff, A., Kim, Y.K., Raynal, N.J.-M., Gharibyan, V., Su, M.-B., Zhou, Y.-Y., Li, J., Castellano, S., Sbardella, G., Issa, J.-P.J., Bedford, M.T. (2011). Histone deacetylase inhibitor activity in royal jelly might facilitate caste switching in bees. *EMBO Rep*, 12, 238-243.
- Sugahara, R., Saeki, S., Jouraku, A., Shiotsuki, T., Tanaka, S. (2015). Knockdown of the corazonin gene reveals its critical role in the control of gregarious characteristics in the desert locust. *J Insect Physiol*, 79, 80-87.
- Sugahara, R., Tanaka, S., Jouraku, A., Shiotsuki, T. (2017). Two types of albino mutants in desert and migratory locusts are caused by gene defects in the same signaling pathway. *Gene*, 608, 41-48.
- Tang, H.Y., Smith-Caldas, M.S., Driscoll, M.V., Salhadar, S., Shingleton, A.W. (2011). FOXO regulates organ-specific phenotypic plasticity in *Drosophila*. *PLoS Genet*, 7, e1002373.
- True, J.R., Yeh, S.D., Hovemann, B.T., Kemme, T., Meinertzhagen, I.A., Edwards, T.N., Liou, S.R., Han, Q., Li, J. (2005). *Drosophila tan* encodes a novel hydrolase required in pigmentation and vision. *PLoS Genet*, 1, e63.
- van Dijk, K., Ding, Y., Malkaram, S., Riethoven, J.-J.M., Liu, R., Yang, J., Laczko, P., Chen, H., Xia, Y., Ladunga, I., Avramova, Z., Fromm, M. (2010). Dynamic changes in genome-wide histone H3 lysine 4 methylation patterns in response to dehydration stress in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol*, 10, 238.
- Vellichirammal, N.N., Gupta, P., Hall, T.A., Brisson, J.A. (2017). Ecdysone signaling underlies the pea aphid trans-generational wing polyphenism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114, 1419-1423.
- Watt, W.B. (1969). Adaptive significance of pigment polymorphisms in *Colias* butterflies, II. Thermoregulation and photoperiodically controlled melanin variation in *Colias eurytheme*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 63, 767-774.
- Weiner, A., Chen, H.V., Liu, C.L., Rahat, A., Klien, A., Soares, L., Gudipati, M., Pfeffner, J., Regev, A., Buratowski, S., Pleiss, J.A., Friedman, N., Rando, O.J. (2012). Systematic dissection of roles for chromatin regulators in a yeast stress response. *PLoS Biol*, 10, e1001369.
- Williams, T.M., Selegue, J.E., Werner, T., Gompel, N., Kopp, A., Carroll, S.B. (2008). The regulation and evolution of a genetic switch controlling sexually dimorphic traits in *Drosophila*. *Cell*, 134, 610-623.
- Wittkopp, P.J., True, J.R., Carroll, S.B. (2002). Reciprocal functions of the *Drosophila* yellow and ebony proteins in the development and evolution of pigment patterns. *Development*, 129, 1849-1858.
- Yassin, A., Bastide, H., Chung, H., Veuille, M., David, J.R., Pool, J. E. (2016). Ancient balancing selection at *tan* underlies female colour dimorphism in *Drosophila erecta*. *Nat Commun*, 7, 10400.
- Yeaman, S., Chen, Y., Whitlock, M.C. (2010). No effect of environmental heterogeneity on the maintenance of genetic variation in wing shape in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 64, 3398-3408.
- Zhou, S., Campbell, T.G., Stone, E.A., Mackay, T.F., Anholt, R. R. (2012). Phenotypic plasticity of the *Drosophila* transcriptome. *PLoS Genet*, 8, e1002593.
- Zong, W., Zhong, X., You, J., Xiong, L. (2013). Genome-wide profiling of histone H3K4-tri-methylation and gene expression in rice under drought stress. *Plant Mol Biol*, 81, 175-188.
- Zverev, V., Kozlov, M.V., Forsman, A., Zvereva, E.L. (2018). Ambient temperatures differently influence colour morphs of the leaf beetle *Chrysomela lapponica*: Roles of thermal melanism and developmental plasticity. *J Therm Biol*, 74, 100-109.