

Mémoire de fin de stage d'IUT

Présenté par
Lisa ROMERO

Mode d'hérédité de l'induction de la diapause embryonnaire chez le moustique tigre *Aedes albopictus*

Stage du 20 mai au 26 juillet 2019

Maître de stage : Albin FONTAINE, PhD

Unité Parasitologie et Entomologie,
Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA)
IHU Méditerranée Infection 19-21 Bd Jean Moulin 13005 Marseille



IUT Génie Biologique option Agronomie de Perpignan
Année universitaire 2018-2019



Remerciements

Mes premiers remerciements vont à mon maître de stage, Monsieur Albin FONTAINE. Il m'a donné l'opportunité de travailler auprès de lui pendant ces 2 mois. Merci pour sa disponibilité, ses conseils et son écoute. Un grand merci également à tous les membres du laboratoire de l'IRBA, pour leur gentillesse et leur hospitalité.

Je n'oublie pas Monsieur François FUSCA, qui m'a mise en relation avec Monsieur Fontaine, ce stage n'aurait pas été possible sans son intervention.

J'adresse aussi des remerciements à ma famille pour les conseils qu'ils m'ont apportés durant la rédaction de ce rapport.

Enfin, un grand merci à Monsieur Jean-Pierre GOBY pour nous avoir laissé la liberté de choisir un stage dans le domaine qui nous passionne.

Réaliser ce stage a été une grande chance pour moi.

Table des matières

Remerciements	3
Table des matières	4
Table des figures.....	5
Préambule	1
I. Contexte	2
L'émergence de virus transmis par les moustiques : un risque pour l'Europe.....	2
Les arbovirus transmis dans un cycle homme – virus – homme.	3
<i>Le virus de la fièvre jaune</i>	3
<i>Le virus de la dengue</i>	4
<i>Le virus du Chikungunya</i>	5
<i>Le virus Zika</i>	5
Le cycle biologique des moustiques vecteurs du genre <i>Aedes</i>	6
Le moustique tigre <i>Aedes albopictus</i> : un vecteur d'importance médicale majeure	7
La diapause : une adaptation au climat tempéré	9
La transmission des caractères héréditaires	11
<i>Génomes et diversité du vivant</i>	11
<i>Hérédité et héritabilité</i>	12
Objectif du projet.....	15
II. Matériel et Méthode	16
Populations d' <i>Aedes albopictus</i>	16
Conditions d'initiation de la diapause	18
Plans de croisements.....	18
Détermination expérimentale du statut d'initiation de la diapause	19
Analyses statistiques et représentations graphiques	20
III. Résultats et discussion	20
<i>L'initiation de la diapause est-elle influencée par le père et le statut génétique de l'embryon dans l'œuf ?</i>	20
<i>Détermination du mode d'hérédité de l'initiation de la diapause</i>	23
Conclusion et perspectives	28
Références	31
Annexes	35
Annexe 1 : Mes activités de laboratoire illustrées	35
Annexe 2 : Tableau de résultats utilisé pour répondre à la question : L'initiation de la diapause est-elle influencée par le père et le statut génétique de l'embryon dans l'œuf ? ...	36
Annexe 3 : Tableau de résultats utilisé pour déterminer le mode d'hérédité de l'initiation à la diapause.	37

Table des figures

FIGURE 1: CYCLES DE TRANSMISSION DES ARBOVIRUS.....	2
FIGURE 2: PLAQUE COMMEMORATIVE PHOTOGRAPHIEE SUR LA DIGUE DES ILES DU FRIOUL EN FACE DE LA VILLE DE MARSEILLE MONTRANT L'EXISTENCE DE LA FIEVRE JAUNE EN EUROPE EN 1820.	4
FIGURE 3: LES DIFFERENTS STADES DE DEVELOPPEMENT D'UN MOUSTIQUE DU GENRE Aedes.....	6
FIGURE 4: REPRESENTATION D'Aedes FEMELLE ET MALE.....	7
FIGURE 5: PHOTOGRAPHIE D'Aedes Aegypti A GAUCHE ET Aedes albopictus A DROITE	8
FIGURE 6: LES ETAPES DE L'INDUCTION DE LA DIAPAUSE CHEZ LE MOUSTIQUE TIGRE Aedes albopictus.	9
FIGURE 7: LIEU DE COLLECTE DES MOUSTIQUES Ae. albopictus NON DIAPAUSANTS, FONDATEURS DE LA LIGNEE OUTRE-MER A L'ILE DE LA REUNION.	17
FIGURE 8: PLANS DE CROISEMENTS ENTRE LES LIGNEES SCHEMATISES	19
FIGURE 9: REPRESENTATION GRAPHIQUE DE L'INCIDENCE DE LA DIAPAUSE EMBRYONNAIRE EN FONCTION DE LA COMBINAISON D'ORIGINE DES PARENTS.....	21
FIGURE 10: DIAGRAMME REPRESENTANT LES ESTIMATIONS DES PROBABILITES D'INITIATION DE LA DIAPAUSE EN FONCTION DES PLANS DE CROISEMENTS (EFFET ORIGINE DU MALE) AVEC LEURS INTERVALLES DE CONFIANCE D'APRES UN MODELE DE REGRESSION LINAIRE AVEC UNE APPROCHE BAYESIENNE.	22
FIGURE 11: DIAGRAMME REPRESENTANT LES LIENS DE PARENTES ENTRE LES FEMELLES ISSUES D'UN CROISEMENT INTER ET INTRA- LIGNEES FRANCE METROPOLITAINE ET OUTRE-MER (A) AINSI QUE LEUR INCIDENCE DE DIAPAUSE (B,C).....	24
FIGURE 12: L'HETEROGENEITE DES GENOTYPES ET UN MODE D'HEREDITE POLYGENIQUE CREENT DE LA VARIATION PHENOTYPIQUE CHEZ LES HYBRIDES F1.....	26

Préambule

Dans le cadre de mon stage de fin d'études, j'ai travaillé au sein de l'Unité de Parasitologie et Entomologie (UPE) de l'Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA). Cette unité appartient à l'Unité Mixte de Recherche Vecteurs – Infections Tropicales et Méditerranéennes (UMR VITROME) et, est localisée au sein de l'Institut Hospitalo-Universitaire (IHU) - Méditerranée Infection à Marseille. Les travaux de recherches réalisés par l'IRBA ont pour objectifs de protéger et prévenir les militaires français des menaces et des contraintes particulières induites par le contexte opérationnel dans lequel ils évoluent mais aussi, d'améliorer la prise en charge et le traitement des maladies et des blessés. Les programmes de recherche sont organisés autour de quatre pôles de compétence qui sont (i) les risques biologiques (naturels et provoqués), (ii) les risques nucléaires radiologiques chimiques, (iii) la recherche médicale opérationnelle et les (iv) facteurs humains. L'unité UPE travaille uniquement sur le risque biologique naturel, notamment sur les maladies vectorielles (i.e. pathogènes transmis par les insectes)¹. J'ai travaillé auprès de Monsieur Albin Fontaine, chercheur contractuel civil à l'IRBA, qui s'intéresse aux interactions entre les moustiques et les pathogènes qu'ils transmettent et aux facteurs génétiques qui sous-tendent des caractères ayant une importance en entomologie médicale.

I. Contexte

L'émergence de virus transmis par les moustiques : un risque pour l'Europe

Les virus ayant un cycle de transmission qui implique un hôte vertébré et un arthropode sont appelés arbovirus, en référence à l'appellation anglaise « arthropod-borne viruses »². Tous les arbovirus ont des cycles de transmission enzootique faisant intervenir des hôtes vertébrés non-humains et des arthropodes, appelés vecteurs³. Plusieurs de ces virus, notamment ceux transmis par les moustiques, ont quitté les forêts primaires où ils circulaient entre les primates non-humains et les moustiques arboricoles pour être maintenus dans des cycles de transmission impliquant uniquement l'homme et des moustiques adaptés à l'environnement urbain. Ce franchissement de barrière d'espèces est en partie lié à la modification des habitats naturels par l'homme, qui a conduit à la raréfaction des hôtes vertébrés non-humains et à l'augmentation des contacts entre les hommes et la faune sauvage⁴.

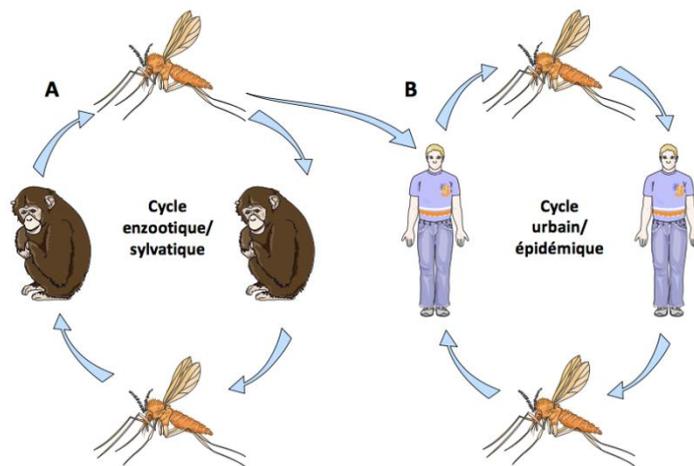


Figure 1: Cycles de transmission des arbovirus

(A) Le cycle sauvage, enzootique ou sylvatique entre le vecteur et l'animal dans lequel l'homme représente un hôte accidentel ; (B) le cycle urbain ou le virus circule entre le vecteur et l'homme.

Ce cycle est à l'origine d'épidémies dans les zones à forte densité de population⁶⁰.

Avec l'essor de la mondialisation, des échanges commerciaux intercontinentaux et du transport de passagers par la voie des airs, le risque d'émergence de pathogènes en Europe n'a jamais été aussi grand. Plusieurs arbovirus ont récemment émergé dans les territoires français d'outre-mer que ce soit dans les Antilles, l'Océan Indien ou en Océanie⁵. Chaque année, des

milliers de voyageurs transitent entre ces régions tropicales et la France métropolitaine. Les périodes d'incubation des arbovirus, c'est à dire le temps qui sépare la pique d'insecte infectante de la déclaration des symptômes de la maladie, sont largement inférieures aux durées de transports intercontinentaux de passagers ⁶. De plus, certains arbovirus peuvent engendrer des infections asymptomatiques qui peuvent contribuer à la transmission par les vecteurs ⁷. Des personnes infectées et infectantes, qui n'ont pas encore développées de symptômes ou ne les développeront jamais, sont donc à risque lors de leur entrée sur le territoire Européen. L'Europe héberge sur son territoire de nombreuses espèces de moustiques potentiellement capables de transmettre ces pathogènes ⁸. Elle a de plus, été envahie par une espèce de moustiques, nommée *Aedes albopictus*, qui a été impliquée dans la transmission d'épidémies majeures d'arbovirus en région tropicale et est reconnue comme étant une des deux espèces de moustiques les plus importantes au monde en termes de santé publique avec *Aedes aegypti* ⁹. De nombreux cas de transmissions d'arbovirus autochtones en France et dans d'autres pays frontaliers ^{10 11 12 13}, tous transmis par des populations locales d'*Ae. albopictus*, soulignent le haut niveau de risque d'émergence d'arbovirus en Europe.

Les arbovirus transmis dans un cycle homme – virus – homme.

Quatre espèces de virus appartenant à deux genres différents peuvent actuellement circuler dans un cycle de transmission impliquant uniquement l'homme et des moustiques vecteurs : le virus de la fièvre jaune (genre : *Flavivirus*, famille : *Flaviviridae*), le virus de la dengue (genre : *Flavivirus*, famille : *Flaviviridae*), le virus Chikungunya (genre : *Alphavirus*, famille : *Togaviridae*) et le virus Zika (genre : *Flavivirus*, famille : *Flaviviridae*).

Le virus de la fièvre jaune.

Le virus de la fièvre jaune a vraisemblablement pour origine le continent Africain où il circule dans des cycles forestiers et urbains. Le virus a été importé en Amérique du Sud lors de la colonisation du continent par les Européens et pendant le commerce triangulaire. Il circule sur les deux continents sous 7 géotypes ¹⁴. Pour des raisons qui n'ont pas encore été expliquées, le virus de la fièvre jaune ne s'est pas implanté en Asie.

La fièvre jaune était un problème majeur de santé publique dans les zones tropicales du 17ème au 19ème siècle. Elle a même touché l'Europe où elle a été importée par les navires marchands et certainement transmise localement par des populations d'*Aedes aegypti* arrivées par bateaux (Figure 2). L'histoire de la construction du canal de Panama en Amérique du Sud

illustre bien l'importance de cette maladie en ces temps-là. En 1881, les Français commencent la construction du canal après plusieurs tentatives réalisées par les colons espagnols. Sur les dizaines de milliers de travailleurs qui construisent le canal français, plus de 85% sont hospitalisés et 22000 meurent principalement de la fièvre jaune. Après deux décennies de travail acharné, le projet du canal a pris fin en 1889. La maladie ayant paralysé l'effort de construction français. Les États-Unis ont finalement réussi en partie grâce au Colonel William C. Gorgas qui a mis en œuvre des mesures sanitaires pour endiguer la transmission de la fièvre jaune par le moustique *Aedes aegypti*¹⁵. La fièvre jaune est l'une des deux maladies vectorielles virales mortelles avec la dengue. Cependant, c'est le seul virus parmi les 4 pour lequel on dispose d'un vaccin efficace. Malgré cela, le virus de la fièvre jaune a émergé récemment dans certains pays comme l'Angola¹⁶, le Brésil¹⁷ et risque d'émerger en Europe du fait d'une faible couverture vaccinale, les difficultés d'approvisionnement en doses vaccinales et la présence de vecteur. Une épidémie majeure de fièvre jaune a eu lieu en Angola en 2016, la plus grande enregistrée depuis 30 ans.

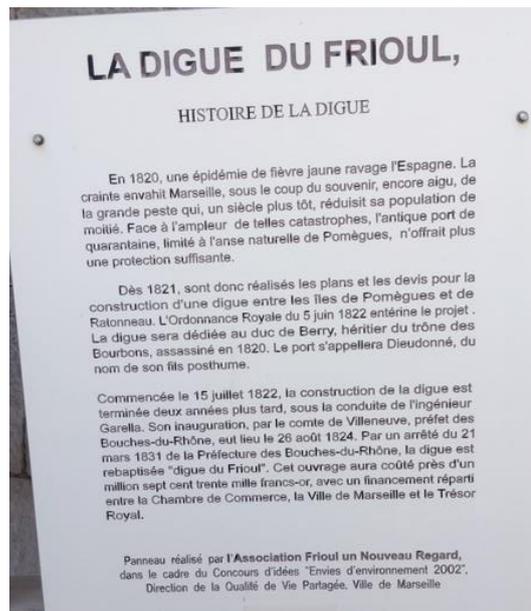


Figure 2: Plaque commémorative photographiée sur la digue des îles du Frioul en face de la ville de Marseille montrant l'existence de la fièvre jaune en Europe en 1820.

Le virus de la dengue.

L'origine Africaine ou Asiatique du virus de la dengue est controversée. Le virus, qui circule sous forme de 4 sérotypes, est maintenant présent sur l'ensemble du globe. La dengue

peut causer des formes dites sévères, potentiellement mortelles. La dengue a posé de gros problèmes de santé pendant la guerre du Pacifique et notamment chez les militaires américains stationnés aux Philippines. La dengue est endémique dans plus de 100 pays situés dans les zones tropicales du monde entier. En 2008, 1,2 millions de cas ont été rapportés dans le monde ¹⁸. L'île de la Réunion fut dernièrement touchée par une importante épidémie de dengue (2018-2019) ¹⁹. Des cas autochtones de dengue, transmis par *Aedes albopictus*, ont eu lieu en France métropolitaine et en Europe ²⁰.

Le virus du Chikungunya.

Chikungunya veut dire « maladie de l'homme courbé » en langage makondée (langue de l'Afrique de l'Est), en référence aux symptômes qui touchent les articulations ²¹. En 2005, une épidémie majeure s'est répandue sur l'île de la Réunion où près de 300 000 personnes avaient été contaminées sur près de 700 000 habitants. Puis, en 2007 une épidémie est apparue en Italie (Région d'Emilia-Romagna) touchant trois cents personnes. En 2010, deux cas de chikungunya ont été recensés dans le sud de la France. *Aedes albopictus* était dans les 3 cas le vecteur incriminé²². Enfin, les Antillais ont fait face à une grosse épidémie entre 2013 et 2015 vectorisée cette fois par *Aedes aegypti*. Le virus du Chikungunya est un exemple de la rapidité à laquelle ces virus à ARN peuvent s'adapter à de nouveaux environnements. Lors de l'épidémie de la Réunion, le suivi virologique des patients réunionnais a permis de mettre en évidence la sélection d'une mutation A226V dans la protéine d'enveloppe au cours de l'épidémie. Cette mutation confère une ineffectivité supérieure des souches E1-226V au moustique tigre par rapport à celle observée pour les souches sauvages E1-226A de virus, suggérant que l'évolution génétique du virus aurait contribué à son adaptation au moustique vecteur réunionnais : *Ae. Albopictus* ²³.

Le virus Zika.

Le virus Zika est le dernier virus à avoir émergé dans un cycle de transmission impliquant uniquement l'homme et les moustiques. Il tire son nom de la forêt de Zika en Ouganda où il a été identifié pour la première fois en 1947. C'est par ailleurs le seul arbovirus pour lequel une transmission sexuelle a été mise en évidence ²⁴. D'abord responsable d'épidémies à petite échelle dans certaines régions tropicales d'Asie et d'Afrique, ce virus a causé plusieurs épidémies de grandes ampleurs en 2007 sur les îles Yap en Micronésie ²⁵, en 2013 en Polynésie française et en 2014 en Nouvelle Calédonie²⁶. En 2015, il a provoqué une épidémie sur le continent américain ²⁷. Les premiers cas furent détectés au Brésil, pays le plus touché avec plus de

1,5 million de cas ²⁸. Aucun cas mortel ne fut recensé mais l'infection chez la femme enceinte a été associée à des risques de microcéphalie chez le nouveau-né ²⁹. L'Organisation mondiale de la santé a classé le virus Zika comme « urgence de santé publique de portée internationale ».

D'autres arbovirus émergents peuvent impacter la santé humaine, comme le virus West Nile (*Flavivirus, Flaviviridae*) ³⁰, l'encéphalite Japonaise (*Flavivirus, Flaviviridae*) ³¹ ou la fièvre de la Vallée du Rift (*Phlebovirus, Bunyaviridae*) ³². L'homme est considéré comme un cul-de-sac épidémiologique (hôte accidentel) pour ces virus, il ne peut pas engendrer des concentrations virales suffisantes pour infecter des moustiques et participer à un cycle de transmission complet.

Les deux principales espèces vectrices d'arbovirus impliquées dans des cycles de transmission urbains sont des espèces de moustiques du genre *Aedes*: *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*.

Le cycle biologique des moustiques vecteurs du genre *Aedes*

Le cycle biologique des moustiques du genre *Aedes* se caractérise par une phase aquatique suivie d'une phase aérienne (Figure 3).

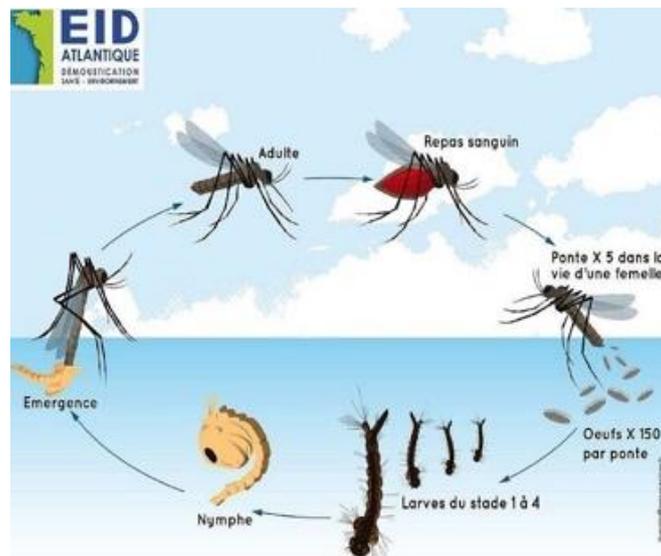


Figure 3: Les différents stades de développement d'un moustique du genre *Aedes*
(Source : site internet de l'établissement interdépartemental pour la démoustication du Littoral Atlantique).

La phase aquatique qui suit immédiatement l'éclosion des œufs immergés est constituée de 4 stades larvaires et d'un stade nymphal. L'ensemble des stades aquatiques respire à la surface de l'eau par l'intermédiaire d'un siphon ou de trompettes respiratoires (pour les nymphes) mais seules les larves se nourrissent de matières organiques contenues dans l'eau². La durée de la phase aquatique du cycle dépend de la température, elle dure environ 7 jours à 28°C. Les moustiques adultes, dit imagos, émergent des nymphes.³³ Le genre mâle et femelle est difficile à distinguer sur les formes aquatiques mais facilement reconnaissable sur les imagos où les mâles se distinguent par une taille plus petite que celle des femelles et une paire de palpes plumeuses (Figure 4³⁴).



Figure 4: Représentation d'*Aedes* femelle et mâle

Les mâles et les femelles se nourrissent de suc végétaux. Néanmoins, ce sont uniquement les femelles qui se gorgent de sang et qui jouent donc le rôle de vecteur pathogène. Après l'accouplement, les femelles stockent les spermatozoïdes dans leur spermathèque pour toute leur vie. Ce sont les repas sanguins qui apportent les substances nutritives indispensables à la maturation des ovaires. Après la période d'ovogénèse qui dure environ 3 jours, les femelles pondent leurs œufs sur des surfaces sèches immersives (se situant à quelques millimètres au-dessus d'une eau stagnante). Ces œufs fécondés et pondus résistent à la dessiccation et poursuivent leur embryogénèse pendant environ 3 jours. Arrivés à maturité, ils éclosent en libérant des larves de stade 1 qui vont se développer jusqu'au stade de nymphe en milieu aquatique³³.

Le moustique tigre *Aedes albopictus* : un vecteur d'importance médicale majeure

Aedes albopictus est un moustique originaire d'Asie, il est présent dans des régions à la fois subtropicale et tempérée. Ce moustique a envahi le monde grâce au commerce de pneu usagé, ce qui lui a permis d'atteindre le top 100 des espèces les plus invasives au monde³⁵.

Communément appelée « Moustique tigre », *Aedes albopictus* tire son nom des rayures qu'il a sur les pattes, une caractéristique qu'il partage avec bien d'autres moustiques en réalité. Par ailleurs, il arbore une ligne blanche tout le long de son thorax noir, ce qui permet de le distinguer facilement d'*Ae. aegypti*, l'autre vecteur principal d'arbovirus (Figure 5) ³⁶.



Figure 5: Photographie d'*Aedes aegypti* à gauche et *Aedes albopictus* à droite

Aedes albopictus a une aire de répartition plus large qu'*Aedes aegypti* car il a la capacité de s'implanter dans les zones tempérées (alors que *Ae. aegypti* est seulement présent dans les zones tropicales).³⁷ En plus de constituer une nuisance, cette espèce de moustique est vectrice de nombreux arbovirus et représente donc un danger de santé publique. La grande capacité d'adaptation de ce moustique, qui lui a permis de s'étendre sur le globe, est en partie due à sa capacité à résister aux conditions environnementales non favorables de l'hiver dans les zones tempérées, par l'intermédiaire de la diapause. Il est à noter que le génome d'*Ae. albopictus* a été séquencé en 2015 ³⁸. Avec 1,967 Mb (presque 2 milliards de paires de bases) il est le plus gros génome de moustique séquencé jusqu'à présent. Cependant, la présence de nombreuses séquences répétées complique l'assemblage de ce génome (i.e. c'est-à-dire la reconstruction de la séquence linéaire de l'ADN en 3 chromosomes).

La diapause : une adaptation au climat tempéré

La diapause consiste en un arrêt temporaire du développement d'un organisme en réponse anticipée à un changement d'environnement non favorable. Pendant la diapause, un organisme diminue l'intensité de ses activités métaboliques pour les reprendre lorsque les conditions de vie redeviennent favorables. Dans la famille des *Culicidae* la diapause peut avoir lieu à chaque étape du cycle de vie des moustiques : stade œuf, stade larvaire ou adulte. L'espèce de moustique *Wyeomyia smithii* passe les hivers sous forme larvaire dans les urnes foliaires de plantes carnivores nommées Sarracénies ³⁹ alors que *Culex pipiens* diapause au stade adulte ⁴⁰. Concernant *Ae. albopictus*, la diapause a lieu au stade embryonnaire dans l'œuf.

La diapause est initiée principalement par la réduction de la longueur du jour (photopériode) en automne et la diminution des températures en prévision d'un hiver froid. Elle est ensuite levée lorsque les jours rallongent et que la température est suffisante. L'insecte passe donc l'hiver sans avoir besoin de se nourrir et reprend son activité quand la mauvaise saison est définitivement terminée. Les différentes étapes de l'initiation de la diapause chez *Ae. albopictus* sont décrites ci-dessous (Figure 6).

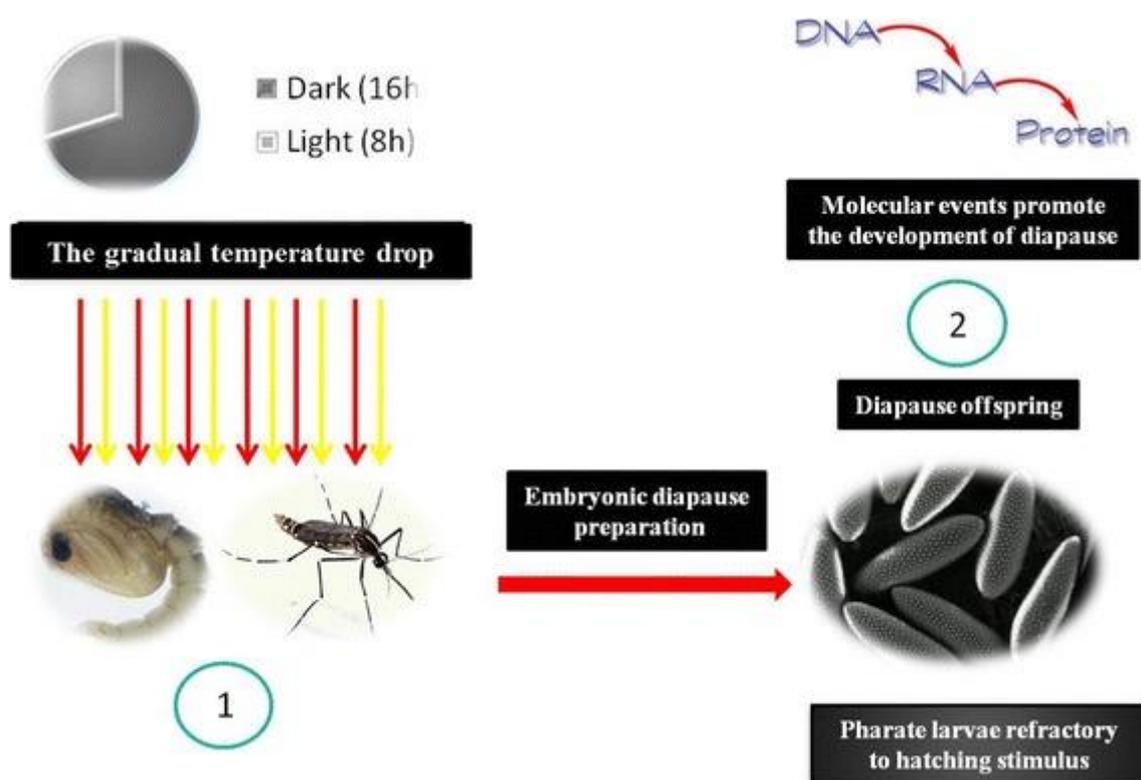


Figure 6: Les étapes de l'induction de la diapause chez le moustique tigre *Aedes albopictus*.

1- L'exposition des larves, nymphes ou adultes à de courtes photopériode (jours courts et nuits longues) et une baisse de la température initient la préparation à la diapause de l'embryon dans l'œuf. 2- L'expression de gènes spécifiques chez la femelle va enclencher la diapause au niveau de l'embryon complètement développé (larve pharate) à l'intérieur de l'œuf qui ne réagira pas au stimulus d'éclosion avant la fin de la diapause. (Adapté de Diniz et al, 2017) ⁴⁰.

La capacité à initier la diapause, ainsi que la résistance à la dessiccation des œufs (leur capacité à survivre en absence d'eau durant plusieurs jours), sont des facteurs qui ont permis à *Aedes albopictus* de se propager rapidement à travers le monde et de coloniser des territoires au climat tempéré.

Par définition, la diapause est un phénomène qui est déterminé génétiquement ⁴⁰. Plusieurs indices permettent d'étayer cette assertion :

- La capacité d'initier la diapause n'est observée que sur des populations d'*Ae. albopictus* en zones tempérées et non chez les populations tropicales ⁴¹.
- L'expansion d'*Ae. albopictus* en Floride en provenance de régions plus tempérées des États Unis a été associée avec une perte graduelle de la diapause de sorte que l'incidence de la diapause est positivement corrélée à la latitude dans le Sud des États-Unis ⁴². Ceci suggère que l'initiation de la diapause peut évoluer sous des contraintes de pressions de sélection.
- Lors de ses travaux de thèse de science en 1989, qui sont précurseurs à notre projet, Charles Boaten Pumpuny a réussi à sélectionner une lignée d'*Ae. albopictus* non-diapausante à partir d'une lignée pouvant initier la diapause en seulement 5 générations ⁴³. Une réponse à la sélection traduit une base génétique pour un caractère.

Des travaux antérieurs, principalement basés sur des comparaisons d'expressions de gènes (transcriptomic, RNAseq) à différents stades de vie du moustique, dans différentes conditions d'initiation de la diapause, ont permis d'identifier plusieurs gènes différentiellement exprimés lors de l'initiation de la diapause ^{44 45 46}. Ces gènes sont impliqués dans plusieurs fonctions cellulaires qui vont préparer les embryons à résister au stress environnemental. Cependant, les facteurs génétiques responsables de l'initiation de la diapause, c'est à dire qui enclenchent la transcription différentielle des gènes cités ci-dessus, n'ont encore jamais été déterminés chez *Ae. albopictus*. A notre connaissance, le seul facteur génétique responsable de l'initiation de la diapause qui a été décrit est DH-PBAN, chez le ver à soie *Bombyx mori* (Xu, 1998) ⁴⁷. Ce

facteur génétique est un neuropeptide activant la biosynthèse de l'hormone de dormance nommée la DH-PBAN (Diapause Hormone-Pheromone Biosynthesis Activating Neuropeptide). Il existe un orthologue de ce neuropeptide chez les moustiques du genre *Aedes*.

La transmission des caractères héréditaires

Génomes et diversité du vivant

La planète Terre abrite une grande diversité d'organismes vivants. Il est estimé que ~8.7 millions (± 1.3 million) d'espèces eucaryotes peuplent la planète Terre actuellement, dans les mers et sur la terre ⁴⁸. Ces organismes vivants se sont adaptés au cours de leurs évolutions à des conditions environnementales très variables. Cette diversité du monde vivant est inscrite dans les molécules d'acide désoxyribonucléique (ADN) de ces organismes. Cette molécule, constituée de 4 bases nucléiques A-T-C-G (pour Adénine, Thymine, Cytosine et Guanine), est le support de l'information génétique. L'information génétique va déterminer les processus développementaux des espèces et leurs permettre de synthétiser les protéines nécessaires au fonctionnement de leurs cellules. L'ensemble du code génétique d'un organisme eucaryote diploïde, appelé génome, est regroupé sur différentes paires de chromosomes et est transmis en totalité (mitose) ou en partie (méiose, ie division cellulaire lors de la gamétogénèse pour produire des cellules haploïdes) aux cellules filles lorsque la cellule divise. Les moustiques sont des organismes diploïdes, ils disposent de 2 paires de chaque chromosome. Le génome des *Aedes* est organisé en 3 paires de chromosomes. Les chromosomes d'une paire sont indistinguables morphologiquement (=chromosomes homomorphiques). Un des chromosomes de la paire numéro 1 porte le locus déterminant le sexe, les mâles étant hétérozygotes à ce locus ^{49 50}.

L'évolution des génomes résulte d'un équilibre entre d'une part des processus génétiques qui vont créer des modifications dans l'ADN, et d'autre part une pression de sélection sur les produits des gènes qui va contre sélectionner les mutations délétères. Ainsi, du polymorphisme génétique ségrége dans les populations d'organismes à travers les générations. On appelle locus une position identique sur le génome de plusieurs individus. Un locus est dit polymorphique lorsqu'il existe plusieurs variants, appelés allèles, au sein de la population. Plusieurs facteurs peuvent engendrer de la variation génétique : un changement de nucléotides à un locus (SNP : single nucleotide polymorphism), une délétion ou une insertion d'un ou plusieurs nucléotides, ou bien encore une répétition de motif nucléotidique.

Quelques définitions :

- **Locus** : Emplacement spécifique sur un génome.
- **Allèles** : Ensemble des variants possibles à un locus donné.
- **Génotype** : Combinaison d'allèles pour un génome.
- **Phénotype** : Caractère(s) apparent(s) d'un individu. Le phénotype dépend de l'expression des gènes et de l'environnement.
- Pour un locus donné, le symbole A/A décrit l'état homozygote pour l'allèle A à ce locus.

Hérédité et héritabilité

Le terme hérédité réfère à la transmission d'un caractère phénotypique de parents à leurs descendants. Au sens biologique du terme, les composants de l'hérédité peuvent être séparés (i) en un mode de transmission lié aux chromosomes et (ii) en un mode de transmission qui est indépendant de l'information liée au génome nucléaire.

Hérédité liée aux chromosomes : l'hérédité mendélienne.

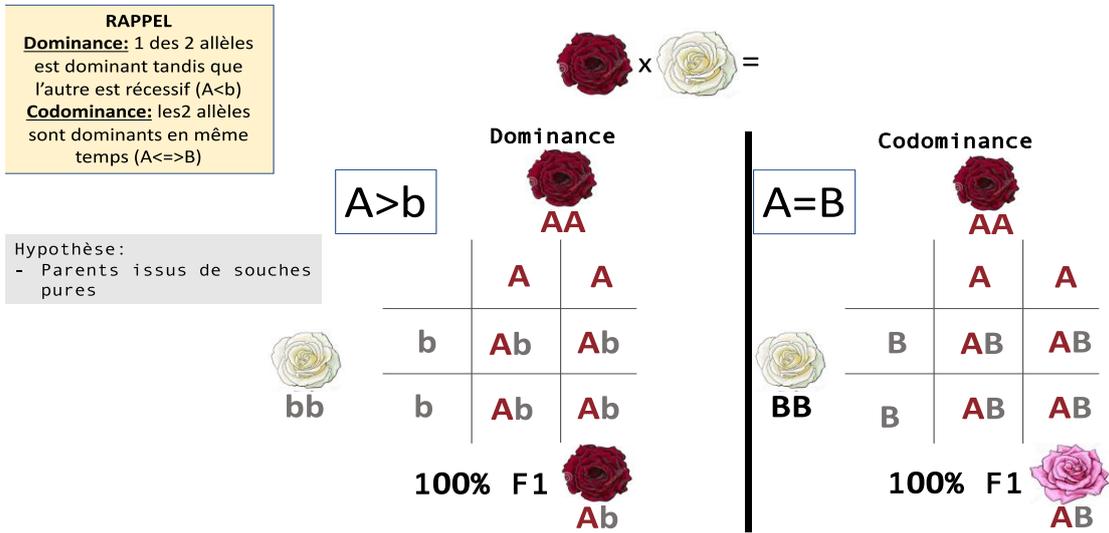
Le mode de transmission lié aux chromosomes, nommé hérédité mendélienne, est la forme la plus connue de transmission génétique dont les lois ont été découvertes et décrites par Gregor Mendel au XIX^e siècle. Cette hérédité est régie par plusieurs lois dont (i) l'uniformité des hybrides issus de deux lignées homozygotes relativement à un caractère contrasté en première génération (F1), (ii) la disjonction des allèles et (iii) l'indépendance de la transmission des caractères (voir Encadré 1).

Les allèles d'un même gène peuvent s'influencer par une relation de dominance, de récessivité voir même de codominance. Si les deux allèles sont différents (hétérozygotes) et qu'un de ces allèles est dominant, c'est lui qui sera exprimé, c'est-à-dire qu'on pourra observer ce caractère chez l'individu. À l'inverse, un allèle récessif (non dominant) ne sera exprimé chez l'individu que si ses deux parents lui ont transmis le même allèle (homozygote). Par conséquent, même si un allèle récessif est présent dans le génotype, il ne sera pas visible dans le phénotype (ensemble des caractères observables d'un individu) si l'autre exemplaire du gène est un allèle dominant. Dans le cas d'une relation de codominance, chez un individu qui porte deux allèles différents d'un gène (génotype hétérozygote), les deux allèles s'expriment à la fois pour générer un phénotype intermédiaire. Le phénotype présente donc les caractéristiques de chacun.

Encadré 1 : Les 3 lois de l'hérédité mendélienne

Première loi de Mendel : loi d'uniformité des hybrides de 1ere génération.

Si l'on croise deux lignées pures distinctes par un seul caractère, tous les descendants de la première génération, qui seront appelés des hybrides F1, sont identiques.



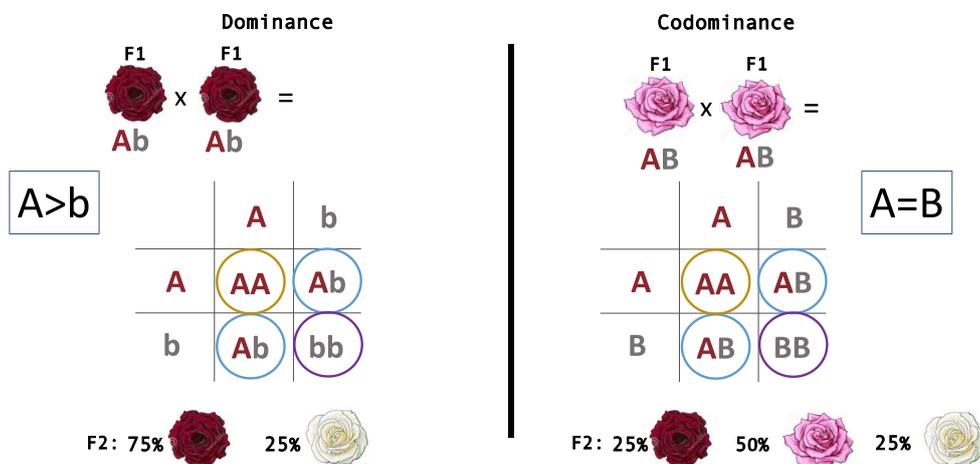
A partir de lignées pures en situation de dominance et de codominance, Mendel obtient qu'un seul phénotype et donc un seul génotype, composé d'un allèle provenant de la mère et d'un allèle provenant du père.

Deuxième loi de Mendel : Loi de la pureté des gamètes ou la disjonction des allèles.

Les gamètes ne possèdent qu'un seul allèle pour chacun des caractères.

Troisième loi de Mendel : indépendance de la transmission des caractères.

La distribution des allèles parentaux à la descendance se fait de façon aléatoire. Lors de la méiose, la distribution des chromosomes homologues aboutit à la séparation des allèles et à leur répartition au hasard dans les gamètes. Cette règle ne s'applique pas pour les loci que l'on dit liés, c'est-à-dire à proximité les uns des autres sur un même chromosome.



A partir du croisement de lignées hybrides (F1) en situation de dominance, on obtient deux phénotypes avec la proportion $\frac{3}{4}$, $\frac{1}{4}$ et en situation de codominance, on obtient 3 phénotypes $\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$ $\frac{1}{2}$.

L'hérédité non-mendélienne.

Par opposition, l'hérédité non-mendélienne désigne les autres formes de transmission de caractères, notamment celles qui reposent sur les constituants du cytoplasme, comme les mitochondries qui sont transmises sur plusieurs générations via la mère seulement, ou la transmission des caractères acquis par les parents qui n'est pas codée génétiquement. L'effet transitoire de la mère, ou le phénotype de la descendance est influencé par des caractères acquis de la mère et affecte uniquement la première génération, en est un exemple. Une autre forme d'hérédité non-mendélienne est la transmission épigénétique qui affecte le phénotype de la descendance par des modifications qui n'altèrent pas la séquence de l'ADN mais sa structure. Des organismes avec des génomes identiques peuvent ainsi avoir des phénotypes différents en fonction des modifications de transcriptions de gènes.

L'héritabilité

L'héritabilité désigne l'estimation de la proportion de variance phénotypique attribuable à la variance génétique dans une population. Comme un phénotype est susceptible d'être influencé à la fois par les gènes et l'environnement, l'héritabilité est une mesure statistique qui peut varier en fonction de l'environnement lorsqu'elle est mesurée sur des sujets identiques. C'est une mesure statistique et quantitative, qui définit à un moment donné et sur une population donnée la part respective des gènes et de l'environnement, de l'inné et de l'acquis. Un trait peut être hérédité mais non héritable si aucune variance phénotypique n'est observée dans une population pour un environnement donné. Par exemple, les êtres humains ont 5 doigts à chaque main. Ce phénotype est héréditaire et déterminé génétiquement. En revanche, il n'est pas héritable car il ne présente pas (ou peu) de variabilité dans une population. Dans nos conditions d'initiation de diapause standardisées, la découverte d'une hérédité élevée de l'induction de la diapause chez *Ae. albopictus* impliquerait que la variation génétique influence grandement ce trait phénotypique, ce qui constitue un indice fort sur le potentiel d'évolution et de sélection de ce caractère. Une absence d'héritabilité pour l'induction de la diapause ne traduirait pas forcément un manque d'implication des gènes de l'organisme dans la détermination de ce caractère, mais simplement un manque de corrélation entre les variances phénotypiques et génotypiques dans notre population et un environnement donné.

Objectif du projet

Ce projet vise à déterminer le mode d'hérédité de l'initiation de la diapause chez l'espèce de moustique *Aedes albopictus* en se basant sur des plans de croisements entre deux lignées ayant des phénotypes d'initiation de diapause contrastés. Nous déterminerons aussi l'héritabilité de ce caractère dans nos conditions expérimentales.

Ces travaux sont indispensables pour identifier les plans de rétrocroisements qui permettront de cartographier les loci (QTLs, Quantitative Trait Loci) associés à la variabilité de la diapause. La détermination du mode d'hérédité pour l'induction de la diapause chez *Ae. albopictus* permettra d'identifier les populations de cartographie (en Anglais : mapping populations) les plus pertinentes pour la cartographie de QTL. Le but ici est d'identifier les plans de rétrocroisements qui permettront d'avoir des phénotypes d'initiation de diapause contrastés. Les plans de rétrocroisements (F2 backcrosses) seront privilégiés par rapport aux plans d'entrecroisement entre frères et sœurs (F2 intercresses) à cause d'une particularité chez les *Aedes* qui complique la création de cartes génétiques. En effet, le chromosome 1 qui porte le locus déterminant le sexe ne recombine pas sur la majeure partie du chromosome ⁵¹, ce qui conduit à des biais de ségrégations d'allèles sexe spécifique en population « F2 intercresses » (les taux de recombinaisons entre locus lors de la méiose diffèrent entre les mâles et les femelles pour le chromosome 1). Ces biais de ségrégations ne sont pas un problème en plans de rétrocroisements car les recombinaisons entre loci ne sont mesurées que sur un seul sexe en fonction du croisement. De plus, les plans de rétrocroisements engendrent uniquement 2 génotypes à chaque locus alors que les plans d'entrecroisements engendrent 3 génotypes à chaque locus, ce qui peut engendrer de nombreuses combinaisons d'allèles différentes entre individus (i.e. en considérant l'effet de 3 loci, un rétrocroisement peut engendrer $(2)^3 = 8$ génotypes différents alors qu'un entrecroisement peut en engendrer $(3)^3 = 27$, ce qui complique l'étude des effets de combinaisons de loci (i.e. épistasie)).

En considérant D l'allèle diapause et N comme l'allèle non-diapause, l'importance de la détermination du mode d'hérédité pour ce caractère peut être illustré par l'exemple suivant. En cas de transmission autosomique dominante (ie, la diapause est induite chez les individus portant au moins un allèle diapause, soit N/D ou D/D) les plans de rétrocroisements (backcrosses) qui produiront uniquement des individus homozygotes D/D ou hétérozygotes N/D seront à éviter car l'ensemble des individus auront un phénotype diapausant. Inversement, en cas de transmission autosomique récessive (ie, la diapause est induite que chez les individus homozygotes

pour l'allèle diapause D/D) les plans de rétrocroisements (backcrosses) qui produiront uniquement des individus homozygotes N/N ou hétérozygotes N/D seront à éviter car l'ensemble des individus auront un phénotype non-diapausant.

L'estimation de l'héritabilité de l'initiation de la diapause chez *Ae. albopictus* dans nos conditions expérimentales permettra d'évaluer nos chances de succès quant à l'identification des loci (QTLs, Quantitative Trait Loci) responsables de la variabilité de ce caractère dans nos populations de cartographie.

II. Matériel et Méthode

Populations d'*Aedes albopictus*

Deux populations d'*Aedes albopictus* avec des phénotypes d'initiation de la diapause contrastés ont été utilisées dans cette étude : une population provenant de France métropolitaine et une population de l'île de la Réunion dans l'Océan Indien. La population de France métropolitaine a la faculté d'initier la diapause alors que la population d'outre-mer ne peut pas.

Les moustiques de France métropolitaine ont été collectés à la fois au stade œuf en utilisant des pièges pondoirs et au stade adulte par capture sur homme à trois différentes locations dans la ville de Marseille (5^{ème}, 12^{ème} et 13^{ème} arrondissements) en juin 2018. Les moustiques *Ae. albopictus* d'outre-mer ont été collectés en juin 2018 sous forme d'œufs par pièges pondoirs dans 6 localités de l'île de la Réunion nommées : Sainte Marie Duparc, Saint André centre-ville, Saint Paul, Le Port Rivière des Galets, Saint Leu Pointe des châteaux, Saint Pierre Bois d'olive (Figure 7). Les moustiques de l'île de la Réunion ont été obtenus grâce à la collaboration de Jean-Sébastien DEHECQ (ARS-Réunion, Délégation Réunion, Lutte antivectorielle).

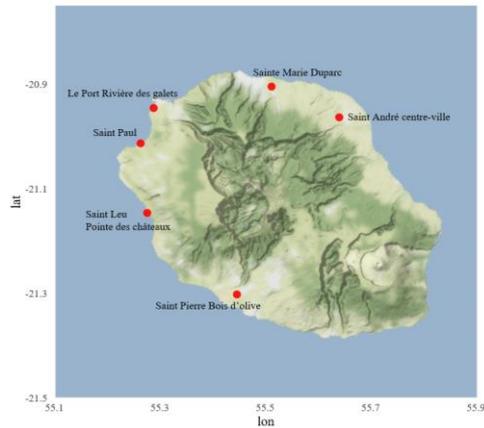


Figure 7: Lieu de collecte des moustiques *Ae. albopictus* non diapausants, fondateurs de la lignée outre-mer à l'île de la Réunion.

Une génération F1 a été obtenue à partir des œufs récupérés sur le terrain et les œufs des adultes capturés sur homme. Pour chaque population, les larves issues de l'éclosion des œufs des différents sites de collectes ont été mélangées et les moustiques ont été ensuite maintenus dans des conditions d'insectarium standardisées (28°C, 75 ± 5% d'humidité, 16:8 heures de cycle jour : nuit) jusqu'à la 3^{ème} génération (F3) par accouplements aléatoires entre frères et sœurs et pontes collectives. Les femelles de moustiques de chaque population ont été gorgées avec du sang humain provenant de l'Établissement Français du Sang (EFS), établissement avec lequel l'unité UPE a une convention pour avoir accès à des poches de sangs issues de dons non-conforme pour un usage thérapeutique (dons avortés avec un volume < 350 ml). Un système de gorgement artificiel a été utilisé (Hemotek Ltd, Blackburn, UK) avec de l'intestin de porc en guise de membrane, qui sépare le sang des moustiques. L'éclosion des œufs a été stimulée par immersion en eau osmosée et les larves ont été ensuite élevées dans des bacs d'eau de dimension 24 × 34 × 9 cm à une densité de 400 larves par bac. Un maximum de 800 moustiques adultes mâles et femelles ont été maintenus dans des cages de 24 × 24 × 24 cm avec des parois en toile de moustiquaire ayant un accès permanent à une solution de sucrose à 10%.

Pour chaque population, des accouplements entre couples de frères et sœurs ont été réalisés sur plusieurs générations à partir de la F3 pour diminuer la diversité génétique au sein de chaque lignée. Le but étant de favoriser la fixation des allèles diapause et non-diapause dans les deux lignées et d'augmenter le nombre de loci homozygotes au sein de chaque lignée avec des allèles différents entre les lignées, une condition indispensable à la création de cartes génétiques et à l'étude du mode d'hérédité mendélienne. Nous avons obtenu des générations consanguines de 2^{ème} génération après la génération F3 décrite précédemment pour la population de France

métropolitaine, et des générations consanguines de 1^{ère} génération après la F3 pour la population de France d’outre-mer (non-diapausante).

Conditions d’initiation de la diapause

Les moustiques ont été maintenus dans des armoires climatiques réglées pour reproduire des conditions environnementales qui (i) n’engendrent pas d’initiation de la diapause (28°C, 75 ± 5% d’humidité, 16:8 heures de cycle jour : nuit) et des conditions environnementales qui (ii) engendrent l’initiation de la diapause (22°C, 75 ± 5% d’humidité, 8:16 heures de cycle jour : nuit). La photopériode de 8h choisie pour initier la diapause est largement inférieure à la photopériode requise pour induire 50% de diapause en condition de terrain ou de laboratoire ⁵². Les femelles dont le statut d’initiation de la diapause était destiné à être évaluée ont été placées dans les conditions de diapause dès le premier stade larvaire (stade aquatique).

Plans de croisements

Un total de 4 croisements réciproques entre lignées parentales a été envisagé. Les plans de croisement entre les lignées et les composants héréditaires associés à chacun de ces croisements sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Tableau 1 : Plans de croisement entre les lignées et les composants héréditaires associés à chacun de ces croisements.

Croisement	Mère	Père	Autosomes	Génome mitochondrial	Chromosome sexuel femelle (pseudo-X)
Lignées parentales					
Cross 1	Outre-mer	Outre-mer	Outre-mer	Outre-mer	Outre-mer
Cross 2	France métropolitaine	France métropolitaine	France métropolitaine	France métropolitaine	France métropolitaine
Hybrides F1 réciproques					
Cross 3	Outre-mer	France métropolitaine	F ₁ (Outre-mer / France métropolitaine)	Outre-mer	F ₁ (Outre-mer / France métropolitaine)
Cross 4	France métropolitaine	Outre-mer	F ₁ (Outre-mer / France métropolitaine)	France métropolitaine	F ₁ (Outre-mer / France métropolitaine)

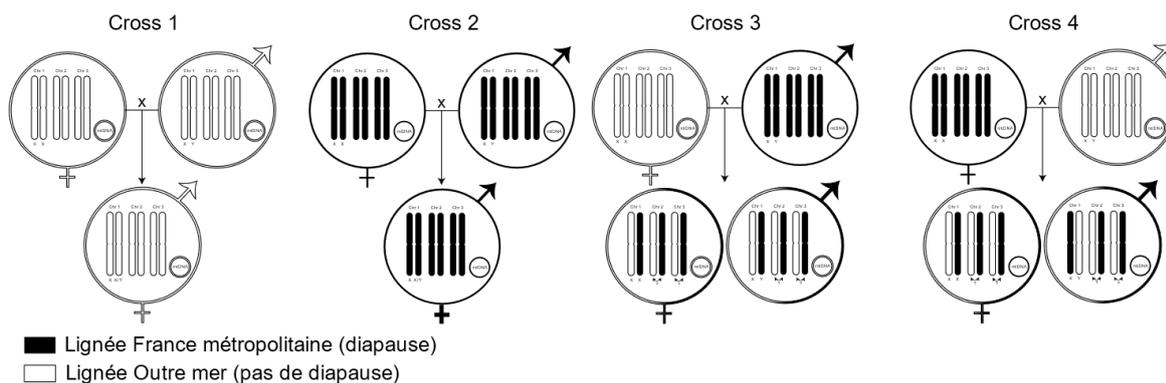


Figure 8: Plans de croisements entre les lignées schématisés

Détermination expérimentale du statut d'initiation de la diapause

Le statut d'initiation de la diapause a été déterminé à partir de la proportion d'œufs en diapause pour chaque femelle issue d'un croisement, élevée en condition d'initiation de diapause. Les moustiques femelles provenant de chaque plan de croisement ont été gorgées avec du sang humain après accouplement et transférées dans des tubes Eppendorf de 2 mL avec un papier de ponte à l'intérieur. Le papier de ponte a été immergé de moitié dans de l'eau osmosée comme décrit par Gillet et al. 1955⁵³. La présence d'œufs sur les papiers de ponte a été inspectée quotidiennement. Une fois que la ponte a été observée pour une femelle, ses œufs ont été immergés dans de l'eau osmosée pendant 7 jours. Au bout de 7 jours, le nombre total d'œufs pondus, d'œufs éclos et de larves a été répertorié pour chaque femelle provenant d'un plan de croisement. L'opération a été répétée quotidiennement pendant 7 jours supplémentaires après une stimulation d'éclosion de 5 min sous chambre à vide (la désoxygénation de l'eau par le vide favorise l'éclosion des œufs non diapausants) sur une partie des pontes pour s'assurer qu'une période de 7 jours après la ponte était appropriée pour la détermination de la diapause. Ces étapes répétées de stimulation d'éclosion ont été conduites pour s'assurer que l'éclosion asynchrone des œufs n'interfère pas avec la diapause. Le statut de diapause des œufs n'a pas changé lors de la mise en eau prolongé des œufs échantillonnés. Au bout des 7 jours d'immersion après la ponte, les œufs ont été séchés pendant 24h et examinés sous microscope pour vérifier la présence d'embryons. Les œufs secs ont été immergés dans de l'hypochlorite de sodium (eau de Javel) pendant 20 à 30 minutes pour décolorer les parois de l'œuf et rendre visible sous loupe binoculaire les embryons en stade de diapause. L'incidence de la diapause a été comptabilisée comme le rapport du nombre d'embryons sur le nombre d'œufs total.

Analyses statistiques et représentations graphiques

L'ensemble des analyses a été conduit dans l'environnement statistique et graphique R⁵⁴. Les représentations graphiques ont été réalisées avec le package ggplot2⁵⁵. La création d'arbres généalogiques et de matrices de liens de parentés a été réalisée avec le package kinship2⁵⁶. Des modèles de régressions logistiques mixtes ont été utilisés pour évaluer l'effet des pères ou des plans de croisement sur l'initiation de la diapause. Le statut diapausant des œufs (facteur binaire qui prend pour valeur 0 ou 1) a été utilisé comme variable réponse et l'identification du père ou le type de croisement ont été incorporés comme variables explicatives à effet fixe dans les modèles. Un effet aléatoire a été attribué à l'identification de la mère pour prendre en considération la variabilité du phénotype dû à la mère. Pour éviter le phénomène de séparation qui perturbe les modèles de régression logistique lorsque qu'une variable explicative « explique » trop bien la variation de la variable réponse, une approche bayésienne a été utilisée grâce aux packages blme⁵⁷ et emmeans⁵⁸. Les incidences de diapause entre femelles au sein d'un même croisement ont été analysées avec un test exact de Fisher.

III. Résultats et discussion

L'initiation de la diapause est-elle influencée par le père et le statut génétique de l'embryon dans l'œuf ?

Il était nécessaire avant d'initier les plans de croisements de déterminer si l'initiation de la diapause est un caractère qui dépend uniquement de la mère ou s'il pouvait être influencé par le père ou le statut génétique de l'œuf. Par exemple, une femelle de lignée Outre-mer qui s'accouple avec un mâle de la même lignée engendrera des larves avec un génome 100% lignée Outre-mer. Une femelle de lignée Outre-mer qui s'accouple avec un mâle de la lignée France métropolitaine engendrera des larves avec un génome hybride (50% lignée Outre-mer :50% lignée France métropolitaine).

Nous avons réalisé 4 plans de croisement où des femelles de chaque lignée ont été isolées avec un mâle provenant de l'une ou de l'autre lignée pour accouplement, dans des conditions d'initiation de la diapause. Les œufs provenant des femelles de la lignée France métropolitaine étaient en statut de diapause en grande majorité (95,7%) indépendamment de l'origine du mâle. Seul 9 œufs sur 64 (14%) et 1 sur 63 (1,5%) ont éclos pour une femelle de la lignée

France métropolitaine accouplée à un mâle de la lignée Outre-mer et une femelle de la lignée France métropolitaine accouplée à un mâle de même origine, respectivement (Figure 8). Aucun œuf issu de femelles de la lignée Outre-mer n'était en diapause. Cependant, des cas d'œufs non-embryonnés ont été observés chez les femelles de lignée Outre-mer, avec une proportion importante pour la femelle accouplée à un mâle de la lignée France métropolitaine. Ce phénomène peut être attribué à l'absence de fécondation (œufs non-fécondés) et peut avoir pour origine un effet du mâle, indépendamment de son origine.

Nous avons eu un effectif réduit concernant ces conditions. Il est à préciser que toutes les femelles ne prennent pas de sang alors qu'elles y sont exposées, et que sur le nombre de femelles gorgées, une faible proportion pond des œufs (i.e. certaines meurent avant de pondre et certaines ne pondent pas après le premier repas sanguin). Des tailles d'effectifs plus grandes seront nécessaires pour dissocier l'effet du croisement avec un effet ponctuel dû au mâle.

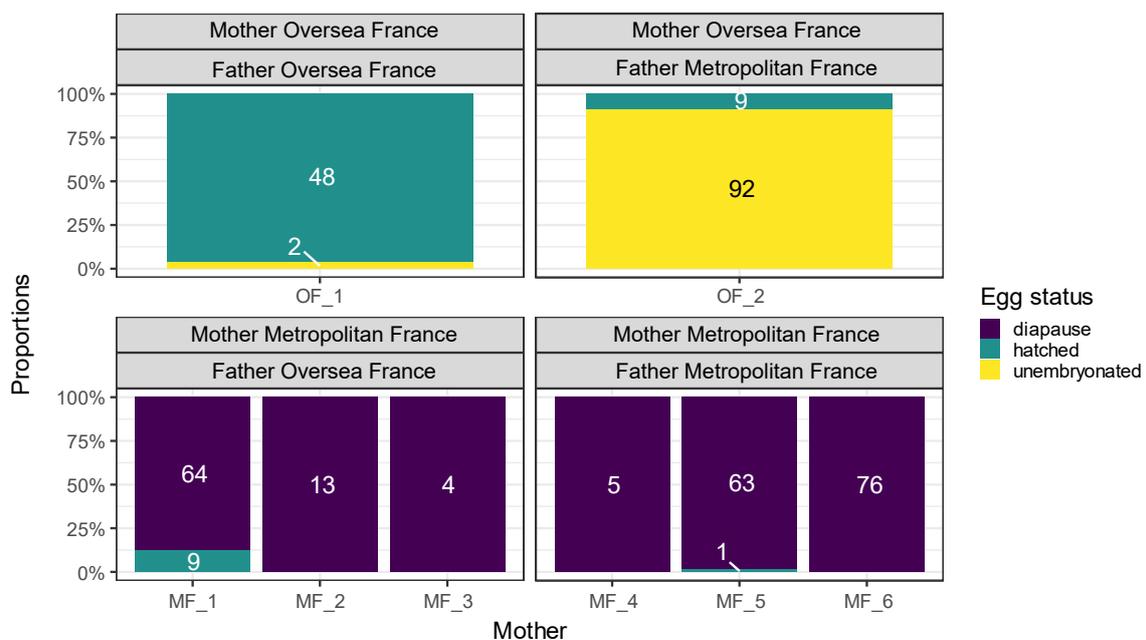


Figure 9: Représentation graphique de l'incidence de la diapause embryonnaire en fonction de la combinaison d'origine des parents.

Chaque barre représente la proportion des statuts des œufs : diapause, éclos et sans embryon pour une femelle. Les 4 combinaisons de lignée d'origine des parents sont représentées dans les 4 panels. Le nombre d'œufs dans chaque catégorie est indiqué sur les diagrammes à barres cumulées.

Un modèle de régression logistique bayésien a été utilisé pour estimer et comparer les proportions d'initiation de la diapause en fonction des combinaisons d'origines des parents. Le

facteur « croisement » à un effet significatif sur la variation de l'incidence de la diapause (Analyse de déviance, comparaison par rapport au modèle nul, $p=0.0017$). Des probabilités d'incidence de la diapause de 0.004 (Intervalle de confiance IC : 0 – 0.34), 0.996 (IC : 0.89 – 1), 0.001 (IC : 0 – 0.995) et 0.96 (IC : 0.49 – 1), ont été assignés pour les plans de croisements 1 à 4 (Figure 13). Le Croisement 1 (♀ lignée Outre-mer accouplée à ♂ lignée Outre-mer) à des estimations d'initiation de la diapause significativement différentes des croisements 2 et 4 impliquant des femelles provenant de la lignée France métropolitaine. Pas de différences significatives observées entre le croisement 3 (♀ lignée Outre-mer accouplée à ♂ lignée France métropolitaine) et les croisements 1 et 4 dû à un faible effectif (seulement 9 œufs pour ce croisement). Seules les femelles provenant de la lignée France métropolitaine ont la capacité à initier la diapause, indépendamment de l'origine de mâle avec lequel elles se sont accouplées. Pas de différences significatives observées entre femelles d'un même croisement (croisement 2 et 4) concernant l'incidence d'initiation de la diapause (Fischer exact test : $p=0.47$ et $p=0.57$ pour les croisements croisement 2 et 4, respectivement).

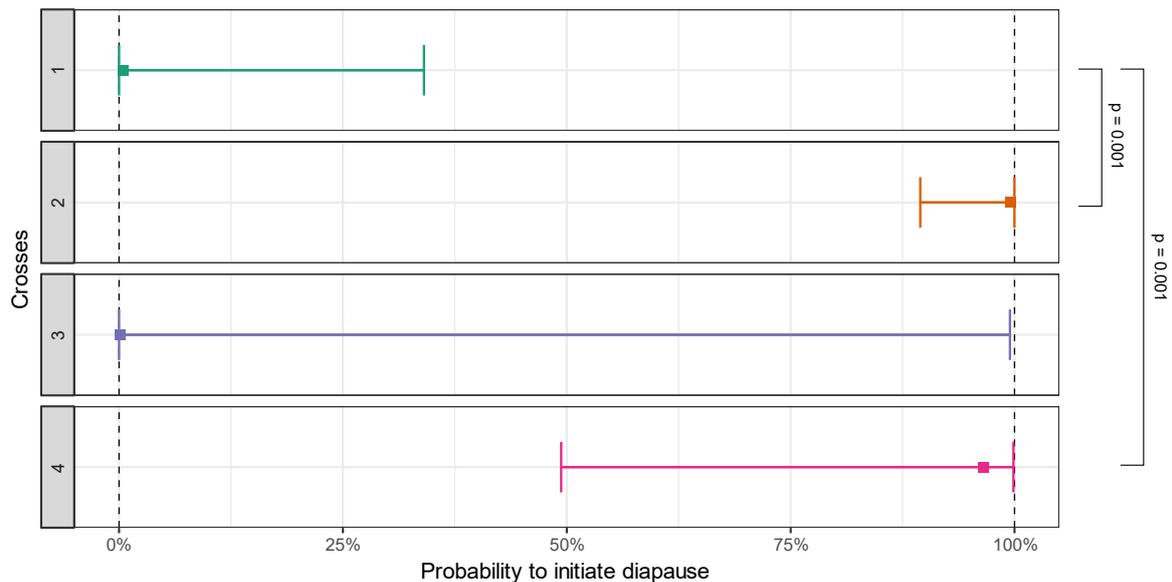


Figure 10: Diagramme représentant les estimations des probabilités d'initiation de la diapause en fonction des plans de croisements (effet origine du mâle) avec leurs intervalles de confiance d'après un modèle de régression linéaire avec une approche bayésienne.

Croisement 1 : ♀ lignée Outre-mer accouplée à ♂ lignée Outre-mer, 2 : ♀ lignée France métropolitaine accouplée à ♂ lignée France métropolitaine, 3 : ♀ lignée Outre-mer accouplée à ♂ lignée France métropolitaine, 4 : ♀ lignée France métropolitaine accouplée à ♂ lignée Outre-mer.

La détermination de l'incidence de la diapause chez *Ae. albopictus* est entravée par le fait que le caractère n'est pas observable sur l'individu adulte mais sur sa descendance. Étant donné que l'obtention d'une descendance implique un accouplement avec un mâle, l'identité du mâle peut être un facteur confondant sur l'estimation de l'incidence de la diapause. Cette expérience révèle que l'initiation de la diapause est un caractère qui est uniquement dépendant de l'identité de la mère. En d'autres termes, l'identité du mâle n'a pas d'importance dans la détermination de l'incidence de la diapause, les mâles sont interchangeable, ce qui simplifie nos plans expérimentaux pour évaluer l'effet de l'hybridation sur l'initiation de la diapause.

Détermination du mode d'hérédité de l'initiation de la diapause.

Des croisements réciproques entre individus de chaque lignée ont été effectués afin d'évaluer l'incidence de la diapause chez les femelles hybrides provenant d'un croisement interligné : Croisement 3 : ♀ lignée Outre-mer × ♂ lignée France métropolitaine, Croisement 4 : ♀ lignée France métropolitaine × ♂ lignée Outre-mer, en comparaison avec des femelles provenant d'un croisement intra-lignée : Croisement 1 : ♀ lignée Outre-mer × ♂ lignée Outre-mer, Croisement 2 : ♀ lignée France métropolitaine × ♂ lignée France métropolitaine.

L'arbre généalogique qui décrit les différents croisements qui ont été réalisés, ainsi que les incidences de diapause déterminées pour chaque femelle est présenté en Figure 14. Chaque femelle de deuxième génération a été placée en condition d'initiation de la diapause et accouplée avec un de ses frères. Bien que nous ayons mis en évidence précédemment l'absence d'effet dû au père sur l'incidence de la diapause, l'identité du frère avec lequel chaque femelle s'est accouplée a été enregistrée pour tester ou prendre en considération cet effet lors des analyses. Nous avons pu obtenir des femelles issues des quatre croisements, bien que la taille des effectifs pour certain croisement soit faible.

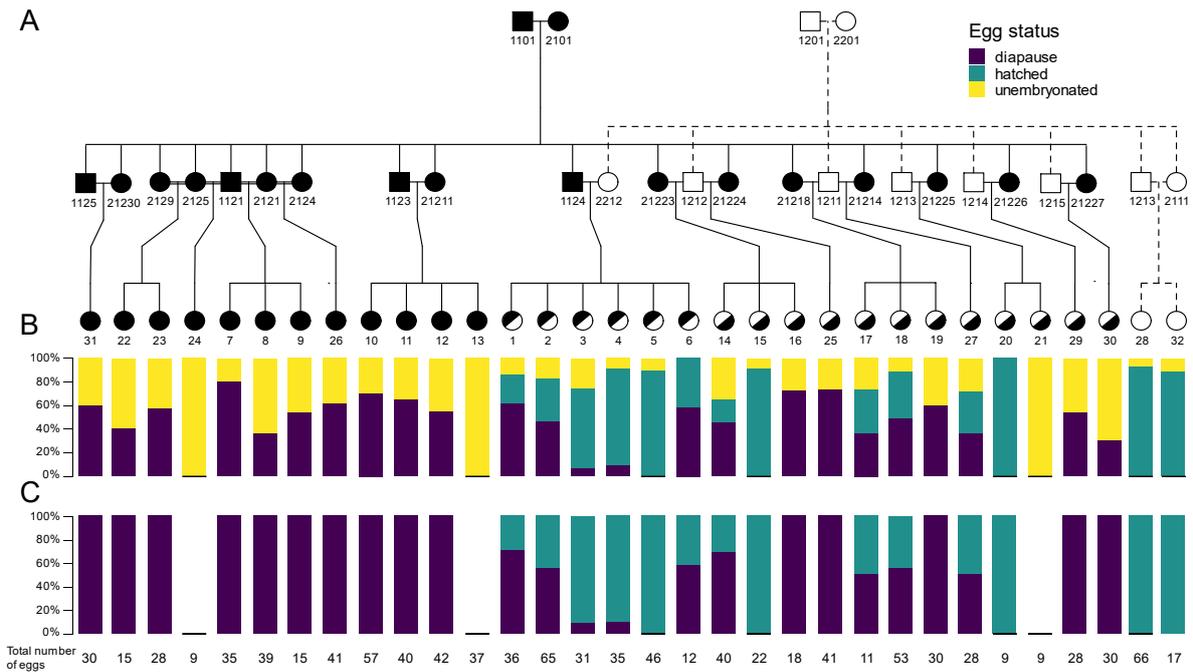


Figure 11: Diagramme représentant les liens de parentés entre les femelles issues d'un croisement inter et intra-lignées France Métropolitaine et Outre-mer (A) ainsi que leur incidence de diapause (B,C).

La proportion relative de chaque statut des œufs est représentée sous forme de barres empilées avec (B) et sans (C) le statut de d'œufs non-embryonnés.

Le statut d'œufs non-embryonnés est observé sur des femelles provenant de l'ensemble des 4 croisements. Ce résultat suggère que le phénotype d'œufs non-embryonnés n'a pas de base génétique. On peut faire l'hypothèse qu'il soit dû à des fécondations non optimales, un facteur qui peut être aléatoire.

Le statut de diapause embryonnaire a été observé sur l'ensemble (10/10=100%) des femelles issues du croisement intra-lignée ♀ lignée France Métropolitaine × ♂ lignée France Métropolitaine (croisement 2) avec des œufs embryonnés. A l'inverse, aucune des 2 femelles issues du croisement intra-lignée ♀ lignée Outre-mer × ♂ lignée Outre-mer (croisement 1) n'a pu initier de diapause. L'ensemble des femelles hybrides provenant des croisements 3 ont une incidence de diapause qui varie entre 0 et 70%. L'ensemble des femelles hybrides provenant des croisements 4 ont une incidence de diapause qui varie entre 0 et 100%. Cette observation est en contradiction avec la première loi de Mendel qui stipule que tous les descendants de première génération d'un couple de parents issu de lignées pures distinctes, appelé hybrides F1, ont un génotype et phénotype identique dans un environnement standardisé. Le facteur « origine

du croisement » a un effet significatif sur la variation de l'incidence de la diapause (Analyse de déviance, comparaison par rapport au modèle nul, $p=0.0017$).

Ces résultats nous permettent de confirmer la base génétique du phénotype d'initiation de la diapause. En effet, pour un environnement standardisé, seules les femelles ayant un fond génétique provenant à 100% ou 50% de la lignée France métropolitaine peuvent initier la diapause. Ces résultats permettent également de déterminer un mode d'hérédité dominant à l'initiation de la diapause. En effet, les femelles hybrides provenant des croisements des deux directions ont la capacité à initier la diapause malgré le fait qu'elles ne disposent que d'une seule copie du génome parental d'individus pouvant initier la diapause.

Le composant héréditaire qui différencie les deux croisements hybrides 3 et 4 est l'origine du génome mitochondrial. Les mitochondries proviennent de la lignée Outre-mer pour le croisement 3 et de la lignée France métropolitaine pour le croisement 4 (Tableau 1). L'analyse de régression logistique n'a pas mis en évidence de différences significatives entre les femelles hybrides provenant des croisement 3 et 4 (2 sens d'hybridation) ($p=0.3426$). L'absence de différence significative entre ces deux croisements concernant le phénotype d'incidence de la diapause permet de ne pas incriminer des facteurs génétiques influençant l'incidence de diapause sur le génome mitochondrial.

Ces résultats nous montre qu'une femelle peut pondre des œufs en diapause ou pas sur une même ponte. Dans ce cas, le caractère dichotomique (caractère qui prend des valeurs qualitatives binaires) de la diapause est perdu au niveau de la mère mais est toujours applicable pour chacun de ses œufs. On peut faire l'hypothèse que l'initiation de la diapause est un caractère binaire qui répond à une dose d'un « produit génétique », par exemple la synthèse d'une hormone. La valeur quantitative de l'hormone produite peut influencer la valeur qualitative de la diapause lorsqu'elle franchit une valeur seuil. Une femelle pourra ou ne pourra pas initier la diapause à l'ensemble de ses œufs si elle ne possède pas une quantité suffisante (qui dépasse la valeur seuil) du produit du ou des gène(s) effecteur(s). Nous pouvons formuler plusieurs hypothèses qui peuvent expliquer la large variabilité phénotypique que nous avons observée chez les hybrides F1, et envisager des pistes pour les valider ou les invalider expérimentalement.

Hypothèse 1 : Un Mode d'hérédité polygénique et une hétérogénéité des génotypes chez les hybrides F1 expliquent les variations d'incidence de la diapause.

L'ensemble de notre étude repose sur des lignées qui ne présentent pas un fort degré de consanguinité. Ce ne sont pas des lignées dites pures et il est probable que différents allèles de

facteurs génétiques impliqués dans la détermination du caractère ségrégent dans la lignée France métropolitaine. C'est un biais qui a été assumé dans cette étude car la création de lignée pure est longue et laborieuse. De plus, il est difficilement envisageable de faire de la sélection car par définition les œufs en diapause n'éclosent pas. L'hérédité mendélienne classique ou monogénique est basée sur la transmission d'un seul gène sous un mode dominant, ou récessif. Si l'on considère notre hypothèse à savoir, que la diapause est déclenchée par un phénomène de dose, plusieurs allèles au sein du génome peuvent avoir un effet additif (ou en interactif) sur la quantité d'hormone produite. Comme illustré sur la figure 11, une variation de quantité d'hormone entre hybrides de la génération F1 peut être expliquée par une hétérogénéité des génotypes à des loci causaux. En fonction de la valeur seuil pour ce produit de gène, l'initiation de la diapause pourra ou ne pourra se faire sur l'ensemble des œufs d'une même ponte.

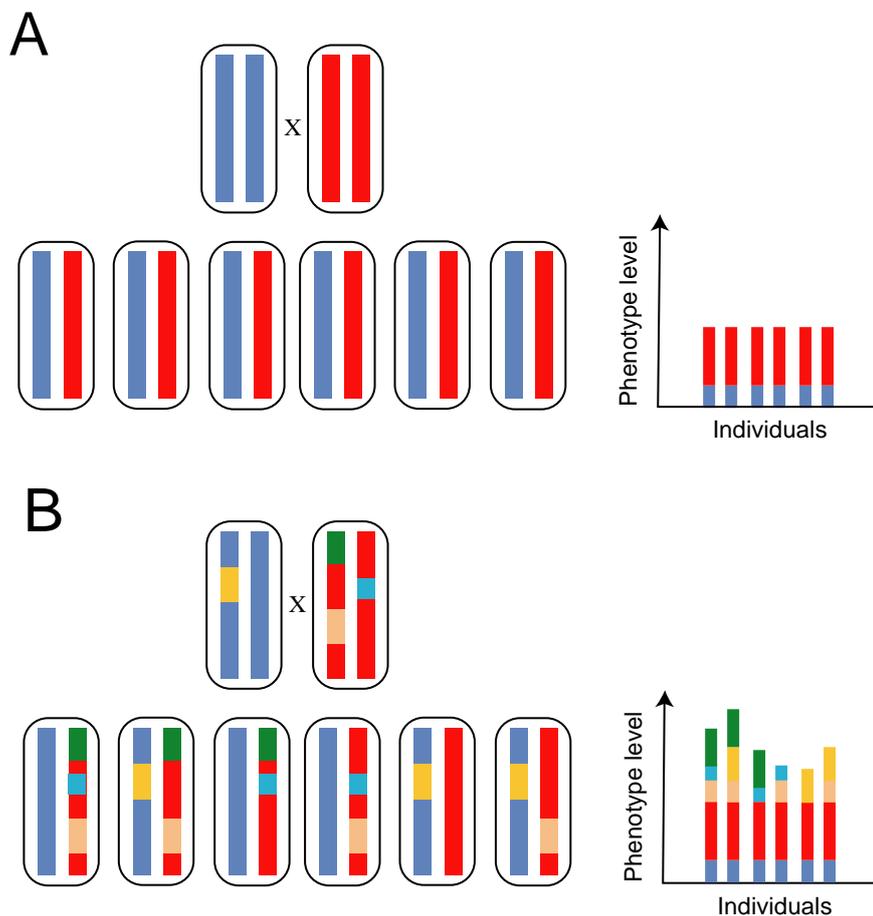


Figure 12: L'hétérogénéité des génotypes et un mode d'hérédité polygénique créent de la variation phénotypique chez les hybrides F1.

Le génotype des parents et des descendants ($n=6$) est représenté à gauche et les valeurs phénotypiques correspondant à droite. A) cas des lignées parentales pures. B) cas des lignées parentales ou différents allèles à différents locus causaux ségrégent ⁵⁹.

Hypothèse 2 : Mode d'hérédité monogénique avec une pénétrance incomplète ou une expressivité variable.

Cette hypothèse est similaire à la précédente, à l'exception du fait qu'un seul gène effecteur est en jeu mais que son expression (notion de pénétrance) ou niveau d'expression (notion de variabilité variable d'expression) est incomplète. Dans ce cas, d'autres gènes que le gène effecteur, bien que n'ayant aucun effet direct sur le phénotype, peuvent intervenir dans l'expression ou le niveau d'expression du gène effecteur. En fonction de l'expression du produit du gène effecteur et de la valeur seuil, l'initiation de la diapause pourra ou ne pourra se faire sur l'ensemble des œufs d'une même ponte.

La réplication de nos expériences avec des lignées exprimant un plus grand degré de consanguinité permettront de renforcer nos deux premières hypothèses. En théorie, un plus grand nombre d'allèles seront fixés au fur et à mesure des générations consanguines successives. Si on observe une diminution de la variabilité du phénotype chez les hybrides F1 avec des générations consanguines plus élevées, nous confirmerons le rôle de la multiplicité d'allèles causals dans la variation de notre phénotype.

Conclusion et perspectives

Nous avons montré que l'initiation de la diapause embryonnaire chez le moustique tigre *Aedes albopictus* avait une base génétique avec un mode d'hérédité dominant. Cependant, nous avons observé une forte variabilité des phénotypes d'initiation de la diapause chez les hybrides F1, un résultat inattendu qui contredit la première loi de Mendel de ségrégation de caractère monogénique. Cette variabilité de l'incidence de la diapause chez les hybrides F1 suggère un mode d'hérédité polygénique de l'initiation de la diapause. Nous projetons de vérifier si l'augmentation du nombre de croisements consanguins au sein de chaque lignée permettra de réduire la variabilité des phénotypes chez les hybrides. Nous projetons aussi d'estimer l'héritabilité de la diapause à base de modèle de régression logistique à effet mixte, dans lesquels nous incorporerons le lien de parenté entre individus sous forme de matrice.

Ces travaux ouvriront la voie vers des études de cartographies génétiques permettant d'incriminer les facteurs impliqués dans l'initiation de la diapause chez *Aedes albopictus*. L'utilisation de méthodes d'édition de génomes (e.g. CRISPR/Cas 9) pour créer des moustiques transgéniques ne pouvant pas initier le caractère d'initiation de la diapause chez *Ae. Albopictus* et pouvant répandre ce caractère dans les populations locales à l'aide du « gene drive » (méthode génétique qui instaure une homozygotie pour des loci d'intérêt à l'ensemble des descendants) est envisageable pour lutter contre l'invasion de cette espèce en Europe et éviter son expansion.

Addendum

Ces résultats font suite aux travaux précédents. Avec 2 générations de consanguinité supplémentaire, on obtient un phénotype uniforme (100%) d'initiation de la diapause chez les hybrides F1. Une seule direction de croisement (mâles France métropolitaine x femelles France Outre-mer) a pu être testée pour le moment. On confirme le mode d'hérédité dominant de l'initiation de la diapause embryonnaire chez *Ae. albopictus* et l'implication directe ou indirecte de plusieurs gènes.

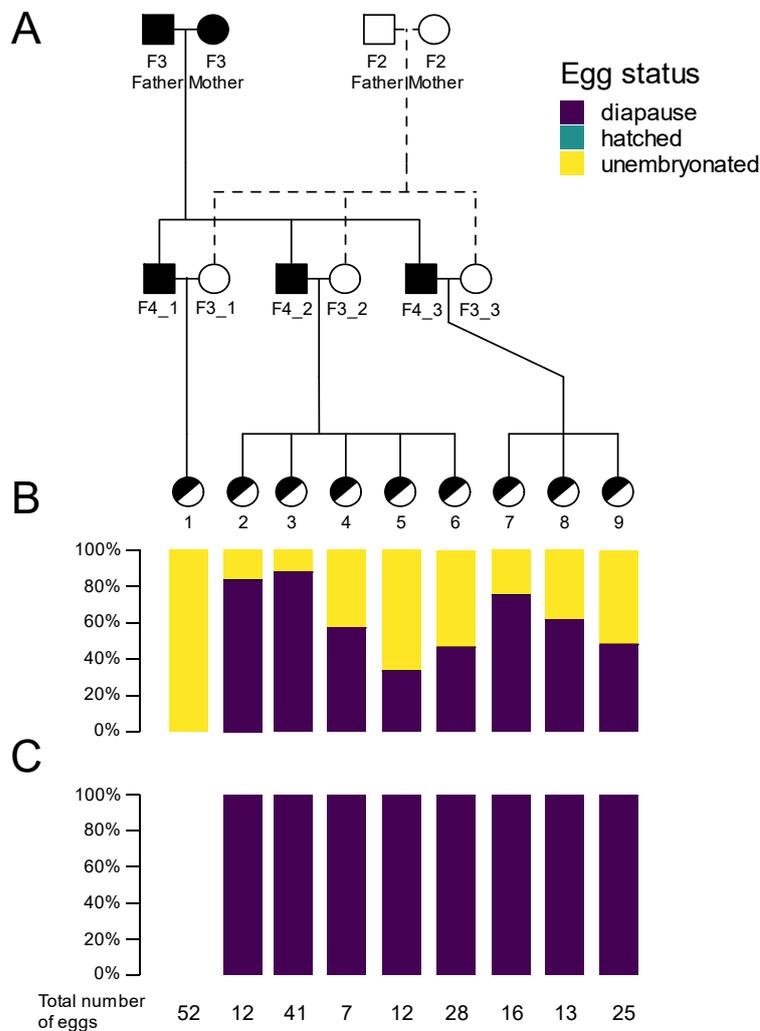


Figure 13: Diagramme représentant les liens de parentés entre les femelles issues d'un croisement inter et intra-lignées France Métropolitaine (génération F3) et Outre-mer (génération F2) (A) ainsi que leur incidence de diapause (B,C). La proportion relative de chaque statut des

œufs est représentée sous forme de barres empilées avec (B) et sans (C) le statut de d'œufs non-embryonnés.

Nous avons estimé une l'héritabilité (h^2) de 0,81 (intervalle de crédibilité : 0,70 : 0,90) via un modèle linéaire généralisé mixte (modèle animal) qui estime h^2 à partir du lien de parenté entre individus et de leurs valeurs de phénotype. Cette estimation ne considère pas l'effet de la dominance ni de l'épistasie. La génétique explique donc une grande part de la variation de l'initiation de la diapause dans notre pedigree. Un prérequis important pour identifier les facteurs génétiques qui sous-tendent ce phénotype (« QTL mapping »).

Références

1. Recherche biomédicale. Available at: <https://www.defense.gouv.fr/sante/notre-expertise/recherche-biomedicale/recherche-biomedicale>. (Accessed: 28th May 2019)
2. Weblet Importer. Available at: <http://invs.santepubliquefrance.fr/fr./layout/set/print/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-transmission-vectorielle>. (Accessed: 3rd July 2019)
3. Pierre, A. & Gaüzère, B.-A. Arboviroses tropicales. *Médecine tropicale : Diplôme de Médecine Tropicale des Pays de l'Océan Indien* 1–17 (2016). Available at: www.medecinotropicale.com. (Accessed: 11th July 2019)
4. Nouveaux virus et moustiques qui menacent l'Europe. Available at: <https://vigilance-moustiques.com/nouveaux-virus-et-moustiques-qui-menacent-leurope-et-la-france/>. (Accessed: 3rd July 2019)
5. L'outre-mer face aux menaces épidémiques. Available at: <http://sante.lefigaro.fr/actualite/2016/02/18/24643-loutre-mer-face-menaces-epidemiques>. (Accessed: 3rd July 2019)
6. Faucher, J.-F. Arboviroses. (2016). Available at: <http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/formation/desc/2016/desc-mit-2016-arboviroses-faucher.pdf>. (Accessed: 11th July 2019)
7. Duong, V. *et al.* Asymptomatic humans transmit dengue virus to mosquitoes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **112**, 14688–93 (2015).
8. Prudhomme, J. *et al.* The native European *Aedes geniculatus* mosquito species can transmit chikungunya virus. *Emerg. Microbes Infect.* **8**, 962–972 (2019).
9. Weetman, D. *et al.* *Aedes* Mosquitoes and *Aedes*-Borne Arboviruses in Africa: Current and Future Threats. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **15**, 220 (2018).
10. Tomasello, D. & Schlagenhauf, P. Chikungunya and dengue autochthonous cases in Europe, 2007-2012. *Travel Med. Infect. Dis.* **11**, 274–84 (2013).
11. Marchand, E. *et al.* Autochthonous case of dengue in France, October 2013. *Eurosurveillance* **18**, 20661 (2013).
12. Delisle, E. *et al.* Chikungunya outbreak in Montpellier, France, September to October 2014. *Eurosurveillance* **20**, 21108 (2015).
13. Sokal, A. *et al.* Zika virus infection: report of the first imported cases in a Paris travel centre. *J. Travel Med.* **24**, taw066 (2016).
14. Chippaux, J.-P. & Chippaux, A. Yellow fever in Africa and the Americas: a historical and epidemiological perspective. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* **24**, 20 (2018).
15. Pierce, J. R. & Writer, J. *Yellow jack : how yellow fever ravaged America and Walter Reed discovered its deadly secrets*. (J. Wiley, 2005).
16. En Angola l'épidémie de fièvre jaune, qui a fait 400 morts, est officiellement terminée | Africanews. Available at: <https://fr.africanews.com/2016/12/23/en-angola-l-epidemie-de-fievre-jaune-qui-a-fait-400-morts-est-officiellement/>. (Accessed: 3rd July 2019)
17. Situation de l'épidémie de fièvre jaune au Brésil ... - MesVaccins.net. Available at: <https://www.mesvaccins.net/web/news/13750-situation-de-l-epidemie-de-fievre-jaune-au-bresil-en-avril-2019>. (Accessed: 3rd July 2019)
18. Wei, K. & Li, Y. Global evolutionary history and spatio-temporal dynamics of dengue virus type 2. *Sci. Rep.* **7**, 45505 (2017).
19. Santé publique France - Epidémie de dengue à La Réunion : plus de 6 490 cas confirmés dans le nord, l'ouest et le sud de l'île depuis le 1er janvier 2018. Available at: <https://www.santepubliquefrance.fr/Actualites/Epidemie-de-dengue-a-La-Reunion-plus-de-6-490-cas-confirmes-dans-le-nord-l-ouest-et-le-sud-de-l-ile-depuis-le-1er-janvier-2018>. (Accessed: 1st July 2019)

20. Premier cas de dengue autochtone en France métropo... - MesVaccins.net. Available at: <https://www.mesvaccins.net/web/news/12991-premier-cas-de-dengue-autochtone-en-france-metropolitaine>. (Accessed: 1st July 2019)
21. Chikungunya / Maladie de « l’homme courbé » | Inserm - La science pour la santé. Available at: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/chikungunya-maladie-homme-courbe>. (Accessed: 1st July 2019)
22. Première contamination par le chikungunya en France | Univers Nature – Actualité, environnement, habitat et santé. Available at: <http://www.univers-nature.com/actualite/alimentation-sante-eau/premiere-contamination-par-le-chikungunya-en-france-56992.html>. (Accessed: 3rd July 2019)
23. osseran L, Solet JL, Renault P, Caillere N, Fouillet A, Le Tertre A, Zeghnoun A, Quenel P, Pierre V, Ilef D, Ledrans M, B. G. Description des fluctuations de la mortalité réunionnaise dans le contexte de l’épidémie de chikungunya en 2005-2006. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire* n°. 38-39-40 353–7 (2008).
24. Musso, D. *et al.* Potential Sexual Transmission of Zika Virus. *Emerging Infectious Diseases* **21**, 359–361 (2015).
25. Lanciotti, R. S. *et al.* Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg. Infect. Dis.* **14**, 1232–1239 (2008).
26. Dupont-Rouzeyrol, M. *et al.* Co-infection with Zika and Dengue Viruses in 2 Patients, New Caledonia, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* **21**, 381–382 (2015).
27. Fauci, A. S. & Morens, D. M. Zika Virus in the Americas — Yet Another Arbovirus Threat. *N. Engl. J. Med.* **374**, 601–604 (2016).
28. Musso, D. Zika Virus Transmission from French Polynesia to Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* **21**, 1887–1887 (2015).
29. Picone, O. *et al.* ARTICLE IN PRESS Infection par le virus Zika chez la femme enceinte Zika virus infection during pregnancy ARTICLE IN PRESS. (2016). doi:10.1016/j.jgyn.2016.03.005
30. La fièvre à virus West Nile. Available at: <https://www.caducee.net/DossierSpecialises/infection/fievre-west-nile.asp>. (Accessed: 1st July 2019)
31. Encéphalite japonaise. Available at: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/japanese-encephalitis>. (Accessed: 1st July 2019)
32. Fièvre de la vallée du Rift. Available at: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/fievre-de-la-vallee-du-rift>. (Accessed: 1st July 2019)
33. Darriet, F. *Des moustiques et des hommes*. (2014).
34. Hall, A. B. *et al.* A male-determining factor in the mosquito *Aedes aegypti*. *Science* (80-.). **348**, 1268–1270 (2015).
35. Le moustique de type *Aedes* s’est propagé dans le monde avec le commerce triangulaire puis la mondialisation. Available at: <https://la1ere.francetvinfo.fr/moustique-type-aedes-s-est-propage-monde-commerce-triangulaire-puis-mondialisation-436435.html>. (Accessed: 1st July 2019)
36. Identifier et reconnaître le moustique tigre | Moustique tigre - Portail d’information. Available at: <http://moustique-tigre.info/identifier-moustique-tigre/>. (Accessed: 3rd July 2019)
37. Gérard, V. *Memoire: Expansion géographique d’Aedes albopictus*. (2012).
38. Chen, X.-G. *et al.* Genome sequence of the Asian Tiger mosquito, *Aedes albopictus*, reveals insights into its biology, genetics, and evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **112**, E5907-15 (2015).
39. Bradshaw, W. E. & Holzapfel, C. M. Natural Variation and Genetics of Photoperiodism in *Wyeomyia smithii*. *Adv. Genet.* **99**, 39–71 (2017).

40. Diniz, D. F. A., de Albuquerque, C. M. R., Oliva, L. O., de Melo-Santos, M. A. V. & Ayres, C. F. J. Diapause and quiescence: dormancy mechanisms that contribute to the geographical expansion of mosquitoes and their evolutionary success. *Parasit. Vectors* **10**, 310 (2017).
41. Hawley, W. A., Reiter, P., Copeland, R. S., Pumpuni, C. B. & Craig, G. B. *Aedes albopictus* in North America: probable introduction in used tires from northern Asia. *Science* **236**, 1114–6 (1987).
42. L. P. LOUNIBOS, R. L. ESCHER, A. R. L. , O.-D.-O. Asymmetric Evolution of Photoperiodic Diapause in Temperate and Tropical Invasive Populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **96**, 512–518 (2003).
43. Pumpuni, C. B. *Factors influencing photoperiodic control of egg diapause in Aedes albopictus (Skuse)*. (1989).
44. Huang, X., Poelchau, M. F. & Armbruster, P. A. Global transcriptional dynamics of diapause induction in non-blood-fed and blood-fed *Aedes albopictus*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **9**, e0003724 (2015).
45. Poelchau, M. F., Reynolds, J. A., Elsik, C. G., Denlinger, D. L. & Armbruster, P. A. Deep sequencing reveals complex mechanisms of diapause preparation in the invasive mosquito, *Aedes albopictus*. *Proceedings. Biol. Sci.* **280**, 20130143 (2013).
46. Reynolds, J. A., Poelchau, M. F., Rahman, Z., Armbruster, P. A. & Denlinger, D. L. Transcript profiling reveals mechanisms for lipid conservation during diapause in the mosquito, *Aedes albopictus*. *J. Insect Physiol.* **58**, 966–73 (2012).
47. Shiomi, K. *et al.* Disruption of diapause induction by TALEN-based gene mutagenesis in relation to a unique neuropeptide signaling pathway in *Bombyx*. *Sci. Rep.* **5**, 15566 (2015).
48. Mora, C., Tittensor, D. P., Adl, S., Simpson, A. G. B. & Worm, B. How many species are there on Earth and in the ocean? *PLoS Biol.* **9**, e1001127 (2011).
49. Matthews, B. J. *et al.* Improved reference genome of *Aedes aegypti* informs arbovirus vector control. *Nature* **563**, 501–507 (2018).
50. Fontaine, A. *et al.* Extensive Genetic Differentiation between Homomorphic Sex Chromosomes in the Mosquito Vector, *Aedes aegypti*. *Genome Biol. Evol.* **9**, 2322–2335 (2017).
51. Fontaine, A. *et al.* Extensive Genetic Differentiation between Homomorphic Sex Chromosomes in the Mosquito Vector, *Aedes aegypti*. *Genome Biol. Evol.* **9**, 2322–2335 (2017).
52. Lacour, G., Chanaud, L., L’Ambert, G. & Hance, T. Seasonal Synchronization of Diapause Phases in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *PLoS One* **10**, e0145311 (2015).
53. Gillett & J.D. Variation in the hatching-response of *Aedes* eggs. *Bulletin of Entomological Research* (46) 241–254 (1955).
54. Team, R. C. R: A language and environment for statistical computing. (2018).
55. Wickham & Hadley. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. (2016).
56. Sinnwell, J. & Therneau, T. *kinship2: Pedigree Functions*. (2019).
57. Y, C., Rabe-Hesketh, Dorie, A, G. & Liu J. A nondegenerate penalized likelihood estimator for variance parameters in multilevel models. *Psychometrika* **78(4)**, 685–709 (2013).
58. Russell Lenth. *emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means*. (2019).
59. Lu, Y. *et al.* Gene expression variation and parental allele inheritance in a *Xiphophorus* interspecies hybridization model. *PLoS Genet.* **14**, e1007875 (2018).
60. Rédacteurs : Dr M. Garcia, P. N. L. R. : D. I. L.-G. et P. X. . de L. Référentiel de

Virologie: Arbovirus. 15 (2016). Available at: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/02/VIRUS_ARBOVIRUS.pdf. (Accessed: 11th July 2019)

Annexes

Annexe 1 : Mes activités de laboratoire illustrées

	<p>Réalisation de boîtes en carton afin d'individualiser les couples de moustiques.</p>
	<p>Comptage d'œufs de moustiques. Observation à la loupe binoculaire d'embryons, de larves et de nymphes de moustiques.</p>
	<p>Préparation du gorgeur pour les repas de sang artificiel.</p>

Annexe 3 : Tableau de résultats utilisé pour déterminer le mode d'hérédité de l'initiation à la diapause.

mosquito_ID	eggs_total	eggs_hatched	eggs_closed	eggs_shrinked	larvae	embryon	perc_diapauseB	perc_hatchedB	perc_unehryonatedB	perc_totalB	perc_diapauseF	perc_hatchedF	perc_totalF
1	36	9	27	0	8	22	61,11%	25,00%	13,89%	100,00%	70,97%	29,03%	100,00%
2	65	24	41	0	20	30	46,15%	36,92%	16,92%	100,00%	55,56%	44,44%	100,00%
3	31	21	10	0	26	2	6,45%	67,74%	25,81%	100,00%	8,70%	91,30%	100,00%
4	35	29	6	0	36	3	8,57%	82,86%	8,57%	100,00%	9,38%	90,63%	100,00%
5	46	41	5	0	34	0	0,00%	89,13%	10,87%	100,00%	0,00%	100,00%	100,00%
6	12	5	7	0	5	7	58,33%	41,67%	0,00%	100,00%	58,33%	41,67%	100,00%
7	35	0	35	4	0	28	80,00%	0,00%	20,00%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
8	39	0	39	1	0	14	35,90%	0,00%	64,10%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
9	15	0	15	3	0	8	53,33%	0,00%	46,67%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
10	57	0	57	0	0	40	70,18%	0,00%	29,82%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
11	40	0	40	0	0	26	65,00%	0,00%	35,00%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
12	42	0	42	5	0	23	54,76%	0,00%	45,24%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
13	37	0	37	10	0	0	0,00%	0,00%	100,00%	100,00%	0,00%	0,00%	0,00%
14	40	8	32	0	8	18	45,00%	20,00%	35,00%	100,00%	69,23%	30,77%	100,00%
15	22	20	2	1	20	0	0,00%	90,91%	9,09%	100,00%	0,00%	100,00%	100,00%
16	18	0	18	0	0	13	72,22%	0,00%	27,78%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
17	11	4	7	1	4	4	36,36%	36,36%	27,27%	100,00%	50,00%	50,00%	100,00%
18	53	21	32	3	21	26	49,06%	39,62%	11,32%	100,00%	55,32%	44,68%	100,00%
19	30	0	30	0	0	18	60,00%	0,00%	40,00%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
20	9	9	0	0	9	0	0,00%	100,00%	0,00%	100,00%	0,00%	100,00%	100,00%
21	9	0	9	9	0	0	0,00%	0,00%	100,00%	100,00%	0,00%	0,00%	0,00%
22	15	0	15	0	0	6	40,00%	0,00%	60,00%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
23	28	0	28	0	0	16	57,14%	0,00%	42,86%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
24	9	0	9	9	0	0	0,00%	0,00%	100,00%	100,00%	0,00%	0,00%	0,00%
25	41	0	41	3	0	30	73,17%	0,00%	26,83%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
26	41	0	41	1	0	25	60,98%	0,00%	39,02%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
27	28	10	18	1	10	10	35,71%	35,71%	28,57%	100,00%	50,00%	50,00%	100,00%
28	66	61	5	4	49	0	0,00%	92,42%	7,58%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
29	28	0	28	1	0	15	53,57%	0,00%	46,43%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
30	30	0	30	7	0	9	30,00%	0,00%	70,00%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
31	30	0	30	1	0	18	60,00%	0,00%	40,00%	100,00%	100,00%	0,00%	100,00%
32	17	15	2	2	15	0	0,00%	88,24%	11,76%	100,00%	0,00%	100,00%	100,00%

Abstract

This project aims to elucidate mechanisms that enable *Aedes albopictus*, a mosquito vector of human pathogens, to be highly invasive and become a growing public health concern in Europe. This invasion capacity is explained by the ability of the temperate population of this mosquito species to induce a developmental arrest in their eggs in response to short photoperiod, a phenomenon called photoperiodic diapause induction. Several lines of evidence suggest that this trait is genetically determined but the molecular basis of the genetic switch(es) that initiates diapause initiation remains unresolved. This project aims to determine the inheritance pattern of diapause induction in *Aedes albopictus* based on mosquito lines crosses with contrasted diapause phenotypes. We confirmed the existence of a genetic basis to diapause induction with a dominant heredity pattern. However, we observed a high diapause induction variability in F1 hybrids, a result that contradicts the first Mendel law concerning monogenic traits and suggests a polygenic pattern of inheritance for diapause induction in this mosquito species. Characterizing the genetic basis of diapause induction in *Ae. albopictus* will open an avenue for genetic control strategies that can curb the territorial expansion of this vector across temperate regions.

Keywords: *Aedes albopictus*, photoperiod, photoperiodic diapause induction, inheritance pattern, monogenic traits, polygenic pattern, genetic control

Résumé

Ce projet vise à élucider les mécanismes génétiques qui confèrent au moustique Tigre *Aedes albopictus* une grande capacité invasive lui permettant de devenir un enjeu de santé publique croissant en Europe. Le potentiel invasif des populations de ce vecteur vivant dans les zones tempérées est expliqué par une capacité d'induction d'un arrêt du développement embryonnaire dans l'œuf en réponse à une photopériode courte : la diapause photopériodique. Plusieurs éléments suggèrent l'existence d'une base génétique à ce phénotype, mais le mécanisme moléculaire qui initie la diapause n'est toujours pas résolu. Ce projet vise à déterminer le mode d'hérédité de l'initiation de la diapause chez l'espèce de moustiques *Aedes albopictus* en se basant sur des plans de croisements entre deux lignées ayant des phénotypes d'initiation de diapause contrastés. Nous avons confirmé qu'il existe une base génétique à la diapause embryonnaire chez *Ae. albopictus* et déterminé un mode d'hérédité dominant. Cependant, nous avons observé une forte variabilité des phénotypes d'initiation de la diapause chez les hybrides F1, un résultat inattendu qui contredit la première loi de Mendel de ségrégation de caractère monogénique et qui suggère un mode d'hérédité polygénique de l'initiation de la diapause. Ce projet ouvre de nouvelles perspectives sur l'implémentation de stratégies de génie-génétique pour contrôler l'expansion de ce vecteur en Europe.

Mots clés : *Aedes albopictus*, photopériode, diapause photopériodique, mode d'hérédité, caractère monogénique, mode d'hérédité polygénique, génie-génétique