



HAL
open science

Bases génétiques et évolution du conflit génétique induit par la distorsion de ségrégation des chromosomes sexuels chez *Drosophila simulans*

Cécile Courret

► To cite this version:

Cécile Courret. Bases génétiques et évolution du conflit génétique induit par la distorsion de ségrégation des chromosomes sexuels chez *Drosophila simulans*. Génétique des populations [q-bio.PE]. Université Paris-Saclay, 2019. Français. NNT : 2019SACLS495 . tel-02434987

HAL Id: tel-02434987

<https://theses.hal.science/tel-02434987>

Submitted on 10 Jan 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.

**Bases génétiques et évolution du conflit
génétique induit par la distorsion de
ségrégation des chromosomes sexuels chez
*Drosophila simulans***

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay
préparée à l'Université Paris Sud

École doctorale n°577 : structure et dynamique des systèmes vivants (SDSV)
Spécialité de doctorat: Evolution

Thèse présentée et soutenue à Gif sur Yvette, le 2 décembre 2019, par

Cécile Couret

Composition du Jury :

| | |
|--|-----------------------|
| Vincent Castric Directeur de Recherche, Université de Lille (UMR 8198) | Rapporteur |
| Richard Cordaux Directeur de Recherche, Université de Poitiers (UMR 7267) | Rapporteur |
| Marie Fablet Maitre de conférence, Université Claude Bernard Lyon 1 (UMR 5558) | Examineur |
| Amir Yassin Chargé de recherche, Muséum national d'Histoire naturelle (UMR 7205) | Examineur |
| Sébastien Bloyer Professeur d'Université, Université Paris Sud (UMR 9198) | Président du jury |
| Catherine Montchamp-Moreau Directrice de Recherche, Université Paris Sud (UMR 9191) | Directrice de thèse |
| Benjamin Loppin Directeur de Recherche, École normale supérieure de Lyon (UMR 5239) | Co-Directeur de thèse |

Remerciements

Déjà trois ans ! On m'avait prévenu mais je ne pensais pas que ça passerait aussi vite. Ces trois années ont été extrêmement riches, j'ai appris beaucoup plus que je ne l'aurais imaginé et rencontré des gens formidables. Même si je suis contente d'avoir fini de rédiger ma thèse, je n'ai pas hâte de terminer et de quitter le labo. Cela a été une super expérience et je recommencerais sans hésiter.

Je tiens tout d'abord à dire un grand merci à ma directrice de thèse, Catherine Montchamp-Moreau. Merci de m'avoir acceptée en stage d'abord en L2 puis en M2 et finalement en thèse. J'ai eu la chance de pouvoir faire ma thèse sur un sujet passionnant, d'apprendre énormément de choses. Merci d'avoir toujours été disponible, à mon écoute, de m'avoir offert des opportunités incroyables et de ta confiance. Tu m'as appris ce qu'était le métier de chercheur. J'ai pleinement conscience d'avoir eu énormément de chance de t'avoir comme directrice de thèse.

J'aimerais également remercier Benjamin Loppin d'avoir accepté de co-encadrer ma thèse. Pendant ma thèse je souhaitais vraiment pouvoir allier l'évolution et le fonctionnel et c'est en grande partie grâce à toi que j'ai pu le faire. Venir sur Lyon m'a permis de maîtriser de nouvelles techniques et d'élargir mes connaissances.

Merci aux membres de mon comité de thèse, Sebastien Boyer, Julie Cocquet, Pierre Gérard et Virginie Orgogozo. J'ai énormément apprécié les discussions que nous avons pu avoir pendant mes trois comités de thèse. Elles ont toujours été extrêmement bénéfiques et m'ont permis de prendre du recul. Les commentaires et suggestions que vous avez pu me faire ont permis d'améliorer mon projet.

Merci à Richard Cordaux et Vincent Castric d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ma thèse. Ainsi qu'à Amir Yassin, Marie Fablet et Sébastien Boyer d'avoir accepté de faire partie de mon jury de soutenance. J'espère que ce manuscrit vous satisfera et j'ai hâte de pouvoir en discuter avec vous.

Un très grand merci à David. Tu m'as appris les bases de la biologie moléculaire, j'ai fait ma toute première PCR avec toi. Tu as toujours été là quand j'en avais besoin et a été d'une aide extrêmement précieuse. Merci pour ta gentillesse et ta patience. Et surtout pour ton soutien technique et moral pendant ces trois ans.

Merci également à toute l'équipe de Lyon : Raphaëlle, Guille, Béatrice, Daniela, Daniel. J'ai vraiment apprécié mes séjours à Lyon et je regrette de ne pas pouvoir être venue plus souvent. J'ai beaucoup appris avec vous et j'espère qu'on pourra continuer à travailler ensemble.

Un grand merci à Emilie, la meilleure co-bureau du monde. Ne plus entendre **** à chaque fois que tu rentres dans le bureau va me manquer (ou pas ;)). Tu m'as apporté le soutien dont j'ai souvent eu besoin, surtout quand mes PCRs et mes clonages ne marchaient pas. Monter la plateforme de transgénése avec toi a été une super expérience, c'est toujours plus sympa de galérer à deux ☺. Mais je crois que je t'ai refilée un peu de ma poisse au passage.

J'aimerais également remercier nos différents collaborateurs : Laurence Moreau, Matthieu Falque, Pierre Gérard, Amanda Larracuenta, Ching-Ho Chang, Chau-Ti Ting et Kami Amad, sans qui nos différents projets n'auraient pas pu être menés à bien.

Un grand merci à tous les non permanents du labo : Andréas, Romain, Julia, Hanna, Florian, Mathieu, Arnaud, Perrine, Vincent, Joseph, Maxime, Maroua, Inoussa, Claudia. Merci pour tous les bons moments, les bières sur procraste, les soirées dans le parc, les parties de Molky/pétanque ou spike-ball. Tous les bons moments qu'on a passés ensemble ont été d'un grand soutien.

Andréas, Julia, Romain merci pour votre soutien et surtout pour tous les fous rires qu'on a pu avoir, les conversations sans queue ni tête, votre folie va me manquer. On aura testé quasiment tous les resto de Gif et promis Julia un jour on trouvera un Mexicain ;).

Hanna merci pour ta gentillesse et ton soutien, et surtout merci pour les soirées sushi et l'escalade.

J'aimerais également remercier les stagiaires de M2 que j'ai eu la chance d'encadrer, Mickael et William. Merci de votre aide précieuse et d'avoir fait un super boulot.

Merci à Pierre Gérard pour tes conseils et toutes les discussions que nous avons pu avoir. J'ai pris un réel plaisir à échanger et à collaborer avec toi.

Merci à toute l'équipe de Ilh45. JB tu m'as sauvé la mise plus d'une fois avec mon ordi, quand dès la première semaine tu plantes tout ton système pour avoir désinstallé python, ça annonce la couleur !
- Nicolas un jour j'arriverais à te poser une question à laquelle tu ne sauras pas répondre - Aurélie pour ton aide en bioinfo - Clément pour tous tes conseils et ton dynamisme - Arnaud pour ton aide en stat et tous les débats qu'on a pu avoir au café - Didier merci pour tes conseils en phylogénie.

Enfin, merci à tous L'EGCE, je n'aurais pas pu rêver meilleur environnement pour faire ma thèse. Ça a été vraiment très agréable de travailler dans une telle bonne ambiance.

A tous les gens que j'ai pu rencontrer pendant ces trois ans.

Un grand merci à toutes les personnes qui m'ont accompagnée et soutenue durant ces trois ans : Camille, Justine et Leo merci d'avoir été présents tout ce temps, nos soirées aux 2bis resteront mémorables. Vous êtes barrés mais je vous adore ; Anna-line et Camille nos petits rdv mensuel étaient salvateurs!; Aux niçois de me supporter et me soutenir depuis si longtemps : Lea, Julie, Jenna, PP, Elisa, les mimi chatons... ; Elisa, Lola vous avez toujours été à l'écoute ; Aux bizuts pour leur soutien depuis la LI.

Je crois que je vais même remercier ma poisse, je pense que maintenant peu de choses pourraient encore me surprendre ...

Enfin j'aimerais dire un grand merci à toute ma famille, en particulier à mes parents et ma sœur, pour avoir cru en moi et m'avoir soutenue depuis toujours

Sommaire

| | |
|--|------------|
| Préambule | 9 |
| Introduction | 11 |
| 1. <i>Les grands types de distorateurs de ségrégation méiotique.</i> | <i>12</i> |
| a. La Gonotaxie..... | 12 |
| b. Gamete killing..... | 13 |
| c. Spore Killer | 16 |
| 2. <i>Les systèmes Sex Ratio chez la drosophile.</i> | <i>18</i> |
| 3. <i>Conflits génétiques et leurs conséquences.</i> | <i>19</i> |
| a. Evolution des systèmes distorateurs | 19 |
| b. Des systèmes aux acteurs multiples. | 22 |
| c. Impacts évolutifs des distorateurs de ségrégation. | 23 |
| 4. <i>Les distorateurs de ségrégation SR chez D. simulans.</i> | <i>26</i> |
| a. Le système Durham..... | 26 |
| b. Le système Winters..... | 27 |
| c. Trois systèmes indépendants ? | 28 |
| 5. <i>Le système Paris.....</i> | <i>29</i> |
| a. Le phénotype cellulaire | 29 |
| b. Impact du distorateur sur la fertilité..... | 29 |
| c. Bases génétiques de la distorsion..... | 30 |
| d. Les éléments supprimeurs | 35 |
| e. Dynamique du système..... | 36 |
| 6. <i>Objectifs de la thèse.....</i> | <i>38</i> |
| Chapitre 1 : Revue | 41 |
| <i>Article 1 Meiotic drive mechanisms: lessons from Drosophila</i> | <i>43</i> |
| Chapitre 2 : La suppression Autosomale | 59 |
| <i>Article 2 X-chromosome meiotic drive in Drosophila simulans: A QTL approach reveals the complex polygenic determinism of Paris drive suppression.....</i> | <i>61</i> |
| Chapitre 3 : Les chromosomes Y résistants..... | 79 |
| <i>Article 3 Sex-Ratio meiotic drive shapes the evolution of the Y chromosome in Drosophila simulans.....</i> | <i>81</i> |
| <i>Article 4 SR drive and the evolutionary history of the Y chromosome in Drosophila simulans.....</i> | <i>109</i> |
| Chapitre 4 : La distorsion | 126 |
| Discussion Générale..... | 136 |
| 1. <i>Evolution du système Paris : au centre du conflit.</i> | <i>136</i> |
| 2. <i>Mécanismes moléculaires impliqués dans le système Paris.</i> | <i>141</i> |
| Perspectives..... | 146 |
| Conclusion Générale..... | 152 |
| Bibliographie..... | 156 |

Introduction

Préambule

D'après les lois de Mendel, les deux allèles d'un même gène ont des chances équiprobables d'être transmis à la descendance d'un individu hétérozygote. La ségrégation des chromosomes a lieu durant la méiose, processus fondamental qui permet non seulement la formation des gamètes mais également le brassage génétique, générateur de diversité. A l'échelle d'une population certains allèles peuvent augmenter en fréquence avec le temps s'ils confèrent un avantage aux porteurs. On parle alors de sélection positive. Ces lois de transmissions sont cependant régulièrement transgressées par des éléments génétiques qui sont qualifiés d'égoïstes. Ceux-ci favorisent leur propre transmission à la génération suivante, de telle sorte qu'ils augmentent en fréquence dans la population et ce même s'ils sont délétères.

La première illustration de ce que l'on nomme un élément « égoïste » a été apportée par (Wilson 1906) avec la découverte des chromosomes B. Il s'agit de chromosomes surnuméraires qui favorisent leur transmission grâce à une augmentation du nombre de copies (sur-réplication) dans le génome et une ségrégation préférentielle dans l'ovocyte plutôt que dans un des globules polaires. Depuis leur découverte, ils ont été observés dans plusieurs milliers d'espèces (A Burt et Trivers 2006) et d'autres modes de transmission préférentielle ont été mis en évidence, comme celui des *Paternal sex ratio (PSR) chromosomes*. Un chromosome PSR est un chromosome B rencontré chez les organismes haplo-diploïdes dont le sexe est déterminé par le nombre de chromosomes hérités. Le PSR est porté par les mâles haploïdes et transmis via le sperme. Après la fécondation, il entraîne la perte du génome paternel. Ainsi les œufs fécondés, normalement diploïdes et donc femelles, se développent en mâles haploïdes et porteurs du PSR (Werren et Stouthamer 2003). De manière similaire les éléments transposables, une autre catégorie d'éléments égoïstes, utilisent la sur-réplication pour se répandre dans les génomes. D'autres types d'éléments égoïstes utilisent des stratégies encore différentes, tels que les distorceurs de ségrégation méiotique qui perturbent la ségrégation des chromosomes au cours de la méiose afin de favoriser la transmission dans les gamètes du chromosome qui les porte. Ils sont ainsi sur-représentés dans la descendance.

Si pendant longtemps, les éléments génétiques égoïstes ont été sous-estimés, considérés comme de « l'ADN poubelle » ou des « parasites », certains sont aujourd'hui connus comme étant universels, tels que les éléments transposables, composants majoritaires du génome de nombreux organismes. De plus, les éléments génétiques égoïstes font actuellement l'objet de recherches intensives pour deux raisons principales : leurs applications potentielles et leurs rôles dans l'évolution des génomes.

Tout d'abord, les mécanismes moléculaires permettant aux éléments génétiques égoïstes de se répandre ont un vaste potentiel d'application. Par exemple les homing endonuclease genes (HEG) sont des éléments génétiques égoïstes produisant une enzyme qui, chez les hétérozygotes, provoque une cassure double brin sur le chromosome homologue qui ne contient pas le HEG. Ils forcent ainsi

Préambule

le système de réparation de l'ADN à insérer le gène HEG en l'utilisant comme matrice. Les HEG ont notamment permis de développer de nombreux outils pour la transgénèse tel que le système CRISPR-Cas9 (revue dans Belfort et Bonocora 2014). Aujourd'hui de nombreuses équipes travaillent sur l'utilisation de cette technologie pour créer des distorceurs de ségrégation synthétiques qui pourraient permettre de ralentir la propagation d'espèces envahissantes ou vectrices de maladies.

Les éléments égoïstes sont également un moteur important de l'évolution des génomes. Un élément égoïste se répand dans une population aux dépens d'autres éléments du génome. Cela entraîne inévitablement un conflit intra-génomique. En effet tout élément génétique capable de supprimer l'action de l'élément égoïste, et qui émerge à un locus non lié, est alors favorisé par les pressions de sélection qui tendent à restaurer une ségrégation équilibrée. Ces conflits génétiques ont des conséquences évolutives majeures. Certains peuvent être à l'origine d'événement de spéciation via un isolement reproducteur ou participent à la complexification du génome. On observe également des événements de « domestication » d'éléments égoïstes par le génome. C'est par exemple le cas des éléments transposables télomériques chez la drosophile, qui sont devenus indispensables au maintien de l'intégrité des extrémités chromosomiques.

Pour comprendre comment de tels éléments égoïstes sont capables d'envahir des populations et avec quelles conséquences, il est important de travailler à la fois à l'échelle des mécanismes moléculaires sous-jacents mais aussi de s'intéresser à l'évolution du système au sein de populations naturelles. C'est ce qui a motivé ma thèse qui porte sur les bases moléculaires du conflit génétique induit par un système de distorsion de ségrégation méiotique chez *Drosophila simulans*. Durant ma thèse je me suis intéressée parallèlement aux mécanismes moléculaires mis en jeu et à l'histoire évolutive du système. Pour comprendre un système égoïste, tels que les distorceurs de ségrégation méiotiques, il faut prendre en compte l'ensemble des acteurs du conflit, l'élément égoïste lui-même mais également le reste du génome.

Introduction

En 1922, Morgan fait la toute première observation d'un distorateur de ségrégation méiotique. Il rapporte que dans des populations naturelles de *Drosophila affinis* certains mâles ont une descendance quasi-exclusivement constituée de femelles. Il fait alors l'hypothèse que ce biais est associé au chromosome X. Malheureusement la lignée est perdue avant que des analyses génétiques soient réalisées (Morgan, Bridges, et Sturtevant 1925).

En 1928, Gershenson fait une observation similaire chez *D. obscura*, à partir d'une population naturelle collectée dans la région de Moscou (Gershenson 1928). Des croisements génétiques lui permettent de conclure que ce biais est uniquement dû au parent mâle et est effectivement génétiquement lié au chromosome X. Il fait l'hypothèse que les spermatozoïdes contenant le chromosome Y participent dans une moindre mesure à la fécondation.

En 1936, Dobzhansky et Sturtevant vont plus loin en réalisant des analyses cytologiques chez des mâles de *D. pseudoobscura* pour lesquels ils observent un biais de sexe ratio dans la descendance. Ils mettent également en cause le chromosome X et observent une dégénérescence du chromosome Y lors de la méiose mâle. Etant donnée le biais de sexe ratio observé, ils utiliseront le terme « *Sex Ratio* » pour décrire les distorateurs associés aux chromosomes X chez la drosophile (Dobzhansky et Sturtevant 1938).

C'est en 1957 que Sandler et Novitski utiliseront pour la première fois le terme de « Meiotic Drive » ou « Distorsion de ségrégation méiotique » (Sandler et Novitski 1957) pour désigner l'action des éléments génétiques égoïstes qui perturbent la méiose de telle sorte qu'ils favorisent leur transmission dans les gamètes de l'individu porteur.

Depuis, des distorateurs de ségrégation méiotique ont été identifiés dans de nombreuses espèces : plantes, mammifères, champignons et bien entendu de nombreux insectes (Burt et Trivers 2006; Helleu et al 2015).

Introduction

1. Les grands types de distorateurs de ségrégation méiotique.

Un distorateur donné ne s'exprime que dans un seul et même sexe. Il peut favoriser sa transmission de deux manières : la gonotaxie ou le *gamete killing/spore killing*, selon le sexe dans lequel il s'exprime.

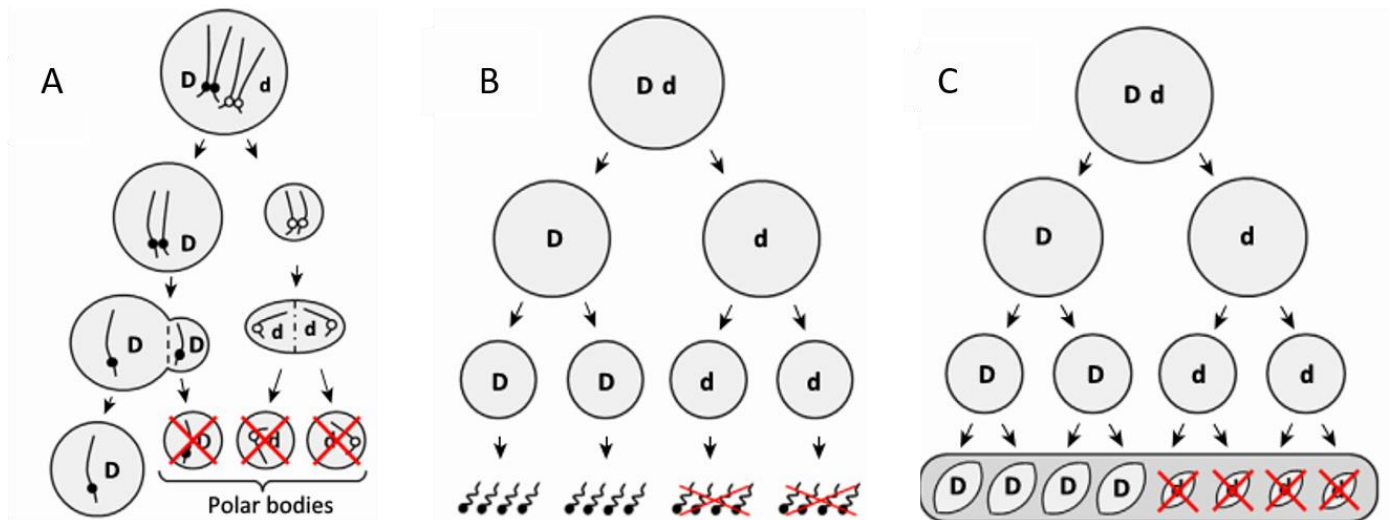


Figure 0.1 : Schéma des différents types de distorateur de ségrégation méiotique. A. Gonotaxie. Le distorateur favorise sa transmission dans le gamète lors de la méiose femelle, tandis que l'allèle alternatif est éliminé dans les globules polaires. B. Sperm-killing. Elimination des spermatozoïdes qui ne contiennent pas le distorateur. C. Spore-killing. Elimination des spores qui ne contiennent pas le distorateur. (Tiré de Lindholm et al. 2016).

a. La Gonotaxie.

Lorsque la méiose est asymétrique, le distorateur peut agir par **gonotaxie**. Chez les femelles de la plupart des espèces, un seul des 4 produits de la méiose donnera un gamète, les autres sont éliminés dans les globules polaires. Le distorateur exploite cette asymétrie pour être transmis de manière quasi systématique dans les gamètes des individus hétérozygotes. Le chromosome qui ne le contient pas aboutissant dans les globules polaires (Figure 0.1.A). Les distorateurs utilisant cette stratégie sont également qualifiés de « **True Driver** ». Ils n'affectent pas directement la fertilité de l'individu porteur, ne diminuant pas son lot de gamètes. Les distorateurs connus agissant par gonotaxie sont souvent associés au centromère. Les centromères sont des structures essentielles à la division cellulaire chez les eucaryotes. On s'attend donc à ce que les séquences répétées qui composent les centromères et les protéines centromériques soient très conservées. Pourtant ces éléments ont une évolution extrêmement rapide, ce qu'on appelle le paradoxe du centromère (Henikoff 2001). L'hypothèse de distorateur centromérique propose que les centromères aient une capacité intrinsèque à favoriser leur transmission dans la cellule germinale femelle lors de la méiose I qui dépend des séquences répétées qui le composent. Des expansions des séquences satellites qui le constituent peuvent augmenter sa « force » de transmission par rapport à celle de son homologue. Le centromère

Introduction

distorteur s'oriente alors de manière préférentielle vers l'œuf. Chez la souris, il a été montré que, lors de la méiose, les microtubules se détachent du centromère distorteur quand celui-ci est orienté vers le cortex (futur globule polaire). Ce détachement entraîne la réorientation des chromosomes de telle sorte que le centromère distorteur soit orienté vers l'œuf (Akeru et al. 2017; Akeru et al. 2019).

Exemple : Distorteur centromérique chez *Mimulus guttatus*.

Le système distorteur associé au centromère chez *Mimulus guttatus*, une Scrofulariacée, a été mis en évidence pour la première fois chez des hybrides de *M. guttatus* et *M. nasutus*. La distorsion a lieu en méiose I. L'allèle *D* de *M. guttatus* est transmis à plus de 90% de leur descendance (Fishman et Willis 2005). Le distorteur *D* est physiquement et génétiquement lié à un élément satellite spécifique du centromère, *cent728*, ce qui suggère fortement que l'élément distorteur est le centromère lui-même (Fishman et Saunders 2008). De plus comme prédit par l'hypothèse de distorteur centromérique, on observe la duplication et l'évolution adaptative d'une protéine centromérique, CENH3, en lien avec le centromère distorteur présent chez *Mimulus* (Finseth et al. 2015).

b. Gamete killing.

Lorsque le distorteur est exprimé chez le mâle, il empêche la formation des gamètes qui ne le contiennent pas. On parle alors de **gamete killing**. Le nombre de gamètes fonctionnels peut s'en trouver réduit de moitié ou presque, ce qui aura un impact sur la fertilité des individus porteurs. La majorité des distorteurs décrits à ce jour utilisent ce mode d'action (revue dans Burt et Triver 2006). Parmi les distorteurs agissant par gamete killing, on distingue deux stratégies : le « **Killer-Target** » ou « **Poison-Antidote** ».

La majorité des systèmes sont de type **killer-target**; ils sont composés d'un distorteur et de sa cible sur le chromosome homologue. Chez les individus hétérozygotes, le distorteur va agir en trans sur le chromosome portant la cible. Pour que le système perdure, il est donc indispensable que le distorteur et la cible ne se trouvent pas sur le même chromosome qui serait alors un chromosome « suicide ». C'est pourquoi la majorité des distorteurs et/ou leurs cibles sont localisés dans des régions hétérochromatiques et/ou associées à des inversions, ce qui empêche toute recombinaison entre eux. L'absence de recombinaison entre chromosomes sexuels bien différenciés fait de ceux-ci un terrain propice à l'émergence d'éléments distorteur.

Introduction

Exemple : Le système SD chez *D. melanogaster*.

SD (*Segregation Distorter*) est un gamète killer autosomal présent à faible fréquence dans les populations naturelles de *D. melanogaster*. Il s'agit du seul système distorteur autosomal connu à ce jour au sein du genre *Drosophila* (Jaenike 2001). Les mâles hétérozygotes *Sd/Sd+*, présentent un défaut de maturation des spermatides *Sd+* (non distorteur), ainsi la descendance de ces mâles est quasi-exclusivement porteuse de l'allèle *Sd* (distorteur) (Sandler et Hiraizumi 1959).

Ce système est composé de deux acteurs majeurs : le distorteur *Sd*, en position proximale sur le bras gauche du chromosome 2 et sa cible *Responder* (*Rsp*), localisée dans la région péricentromérique du bras droit (Sandler et Hiraizumi 1960; Hartl 1974). *Sd* est une courte duplication codant une version tronquée de la protéine RanGAP (*Sd-RanGAP*), impliquée dans le transport nucléaire (Merrill 1999). *Sd-RanGAP* a gardé les fonctions enzymatiques de la protéine sauvage mais sa localisation cellulaire est anormale, ce qui laisse supposer qu'un défaut du transport nucléaire pourrait être impliqué dans le phénotype de SD. *Rsp* correspond à une séquence satellite de 240 pb (Pimpinelli et Dimitri 1989; Wu et al. 1988; Lyttle 1989). La manière dont *Sd* et *Rsp* interagissent reste encore inconnue à ce jour.

L'action de *Sd* est post-méiotique. Les mâles *Sd/Sd+* montrent un défaut de condensation de la chromatine, qui perturbe la maturation et l'élongation des spermatides porteuses de l'allèle *Sd* (Peacock et al. 1972; Tokuyasu et al 1977). Ces perturbations semblent survenir lors de la transition histone-protamine (Hauschteck-Jungen et Hartl 1982). Cependant les mécanismes moléculaires sous-jacent restent inconnus (revue dans Larracuenta et Presgraves 2012).

Dans les systèmes de type **poison-antidote** le chromosome distorteur est composé d'un ou plusieurs loci. Certains vont produire une toxine capable de diffuser dans l'ensemble des gamètes. Tandis que d'autres produisent l'antidote qui lui ne diffuse pas, protégeant ainsi uniquement les gamètes portant le chromosome distorteur.

Exemple : L'haplotype *t* chez la souris.

L'un des premiers "gamete killers" identifiés est l'haplotype *t* chez la souris, qui s'exprime chez les mâles. Il a été découvert en 1920 dans une population de laboratoire grâce à son association avec une mutation affectant la longueur de la queue des souris (Dobrovolskaia-Zavadskaia et Kobozieff 1927). L'haplotype *t* est présent dans les populations naturelles des sous espèces de *Mus musculus* (Silver 1993). Il est situé sur le chromosome 17 à proximité du centromère. Les mâles hétérozygotes *t/+* transmettent de manière préférentielle (à plus de 90%) l'haplotype *t* à leurs descendants (Lyon 2003). L'haplotype *t* représente environ 1/3 du chromosome 17 (30-40 Mb) et il est composé de 4 inversions qui empêchent la recombinaison avec le chromosome sauvage. L'haplotype *t* comporte 5 loci distorteurs (*Tcd1* à *Tcd5*) et un locus *responder* (*Tcr* pour *t-complex responder*). Ce système s'apparente à un système poison-antidote. Les éléments distorteurs produisent une toxine, distribuée

Introduction

dans l'ensemble des spermatozoïdes, affectant leur motilité. Le locus *Tcr* produit un antidote qui lui ne diffuse pas, agissant uniquement dans les spermatozoïdes porteurs de l'haplotype *t* (Herrmann et al. 1999). Cet antidote a été identifié par Herrmann et al. comme étant une protéine fusion entre Smok (Sperm motility kinase) et Rsk3. Ainsi les mâles *t/+* produisent les deux types de spermatozoïdes, cependant les spermatozoïdes *+* sont dysfonctionnels, inaptes à la fécondation.

Trois des 5 éléments distorceurs ont été identifiés. *Tcd1* correspond à un allèle hypermorphique de *Tagap1* qui réduit l'inactivation du gène *Smok1* (Herrmann Bauer et al. 2005). *Tcd2* correspond à un allèle hypermorphique de *Fgd2* qui augmente l'activation de *Smok1* (Bauer et al. 2007). Les deux éléments distorceurs entraînent donc, une hyperactivation de *Smok1* qui code une protéine kinase impliquée dans la régulation de la motilité du flagelle, via la voie des protéines G. Le troisième élément distorceur identifié est un allèle hypomorphe de *Nme3*. *Nme3* est impliqué dans la phosphorylation de GDP en GTP, molécules nécessaire à l'activation des protéines G. L'effet délétère induit par les distorceurs est « sauvé » par le locus *Tcr* qui code pour un dominant négatif de *Smok1* (Bauer et al. 2012).

Le système SD et l'haplotype *t* sont tous deux des systèmes autosomaux. Or la majorité des systèmes connus agissant par gamète-killing sont liés aux chromosomes/loci sexuels et provoquent donc des biais du sexe ratio.

Exemple : *Aedes aegypti*.

Un distorceur de ségrégation méiotique entraînant un biais de sexe ratio a été identifié dans les populations naturelles de *Aedes aegypti* (Craig et al 1960). Contrairement à la plupart des systèmes distorceurs liés au sexe, généralement associés au chromosome X, celui-ci entraîne un biais de sexe ratio en faveur des mâles. Il n'y a pas de chromosomes sexuels différenciés chez *A. aegypti*, la détermination du sexe se fait via le locus M situé sur un autosome. Les mâles sont de type M/m et les femelles sont de type m/m. L'élément distorceur est étroitement lié à ce locus de détermination du sexe, moins de 5.2 centimorgans entre eux (Hickey et Craig 1966; Shin et al 2012). De plus la cible du distorceur correspond à l'allèle *m* des femelles. Le distorceur provoque des cassures du chromosome porteur de l'allèle *m* durant la méiose, entraînant la dégradation des spermatozoïdes *m* (Newton et al 1976). Ces cassures pourraient être causées par des crossing-over incomplets. Dans les populations de *A. aegypti* on observe des variations du niveau de distorsion associées à une variabilité de la sensibilité du locus *m* au distorceur.

Introduction

c. Spore Killer.

Chez les champignons, il existe également des systèmes distorceurs. Les mécanismes utilisés peuvent s'apparenter à du gamete killing. Les 4 produits de méiose (spores) sont regroupés dans un asque, les spores porteuses de l'allèle distorceur induisent la destruction des spores ne le contenant pas, on parle de *spore-killing*.

Exemple : Le système *wtf* chez la levure.

Entre *Schizosaccharomyces pombe* (Sp) et *Schizosaccharomyces kambucha* (Sk) il y a 99,5% d'identité de séquence, cependant les hybrides Sp/Sk sont stériles. Cette stérilité hybride est causée par des réarrangements chromosomiques et plusieurs distorceurs de ségrégation. En effet les 3 chromosomes de Sk portent chacun un élément distorceur qui agit comme spore killer contre les gamètes de Sp (Zanders et al. 2014).

L'un de ces éléments distorceurs a été récemment identifié, il s'agit du gène *wtf4* (Nuckolls et al. 2017). L'allèle Sk de *Wtf4* produit deux transcrits : un transcrit court qui code un poison et un transcrit long qui code l'antidote. Alors que le poison est produit dans l'ensemble des produits de la méiose, l'antidote, quant à lui, l'est uniquement dans les spores qui portent l'allèle Sk de *wtf4*, empêchant l'action du poison. Seules les spores qui ne contiennent pas l'allèle distorceur de *wtf4* sont alors détruites (Nuckolls et al. 2017) (Figure 0.2). Les deux protéines produites par *wtf4* sont des protéines transmembranaires laissant supposer que le poison pourrait agir en perturbant l'intégrité de la membrane. La particularité de ce système est son autonomie: un même locus produit à la fois le poison et l'antidote.

Introduction

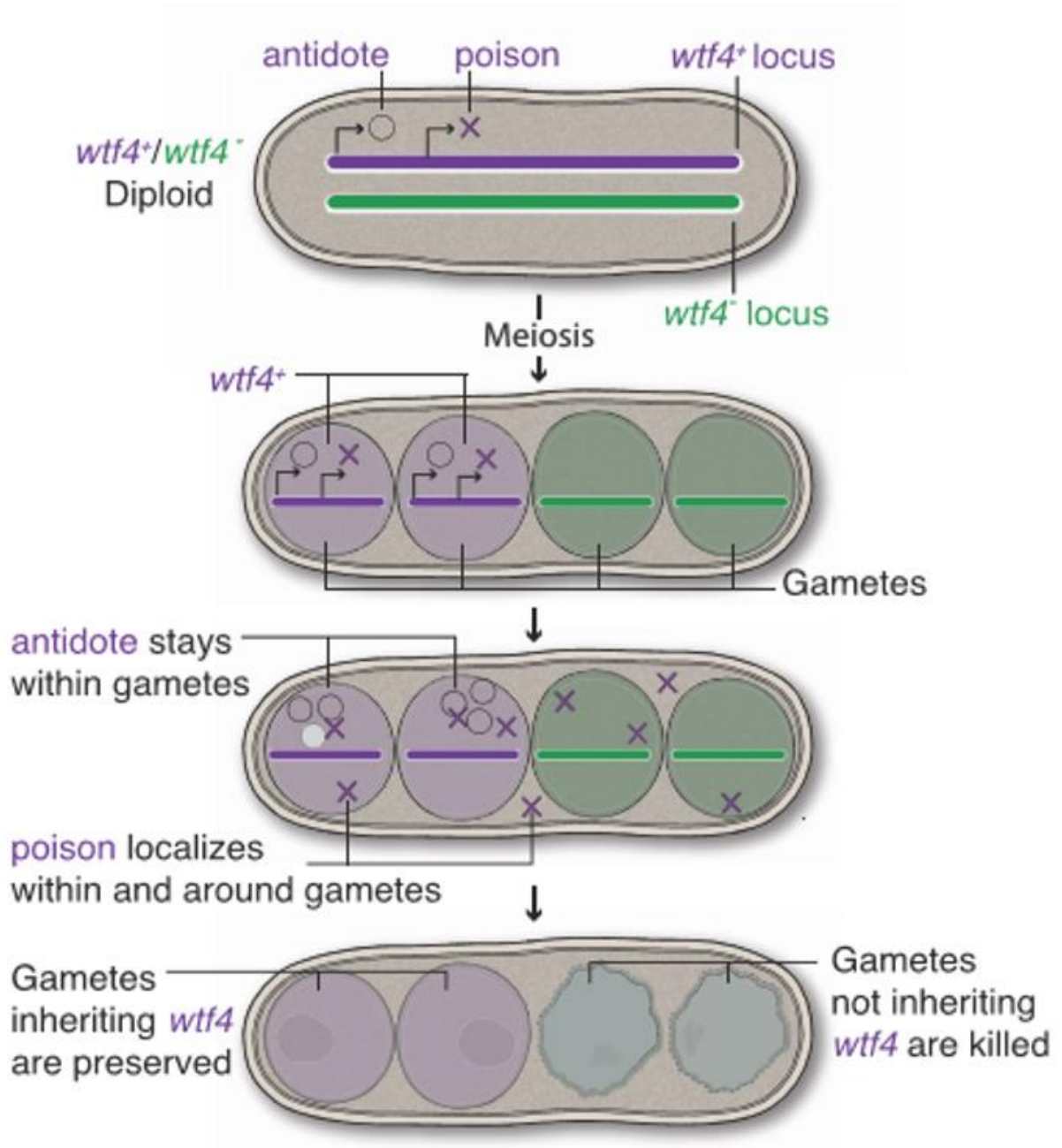


Figure 0.2 : *Modèle du mécanisme cellulaire du système poison-antidote wtf4* (Issue de Nuckolls et al. 2017).

Introduction

2. Les systèmes *Sex Ratio* chez la drosophile.

Au sein du genre *Drosophila* pas moins de 19 systèmes de distorsion de ségrégation ont été recensés, dans 15 espèces de Drosophiles (Jaenike 2001; Tao et al. 2007b; L. Zhang et al. 2015; Keais et al. 2017) (Figure 0.3). Ils sont tous exprimés chez les mâles et agissent donc par *sperm killing* (Jaenike 2001). A l'exception du système *SD* de *D.melanogaster*, décrit plus haut, les distorateurs sont situés sur le chromosome X (on parle alors de X_{SR}). Chez les mâles porteurs d'un X_{SR} on observe une descendance constituée majoritairement de femelles (parfois totalement). Lors de la méiose le distorateur empêche la formation de spermatozoïdes fonctionnels portant le chromosome Y. Etant donné le biais de sexe ratio observé, on appelle ce genre de système des systèmes *Sex Ratio* (Sturtevant et Dobzhansky 1936).

La nature très hétérochromatique du chromosome Y chez la plupart des espèces du genre *Drosophila* en fait une cible parfaite pour le distorateur (Bachtrog 2013). Cependant, il est important de souligner que si la plupart des systèmes connus sont associés au chromosome X, cela est aussi dû au fait qu'ils sont plus facilement identifiables de par le biais de sexe ratio qu'ils entraînent. De fait, la diversité des distorateurs dans les populations naturelles est très certainement largement sous-estimée.

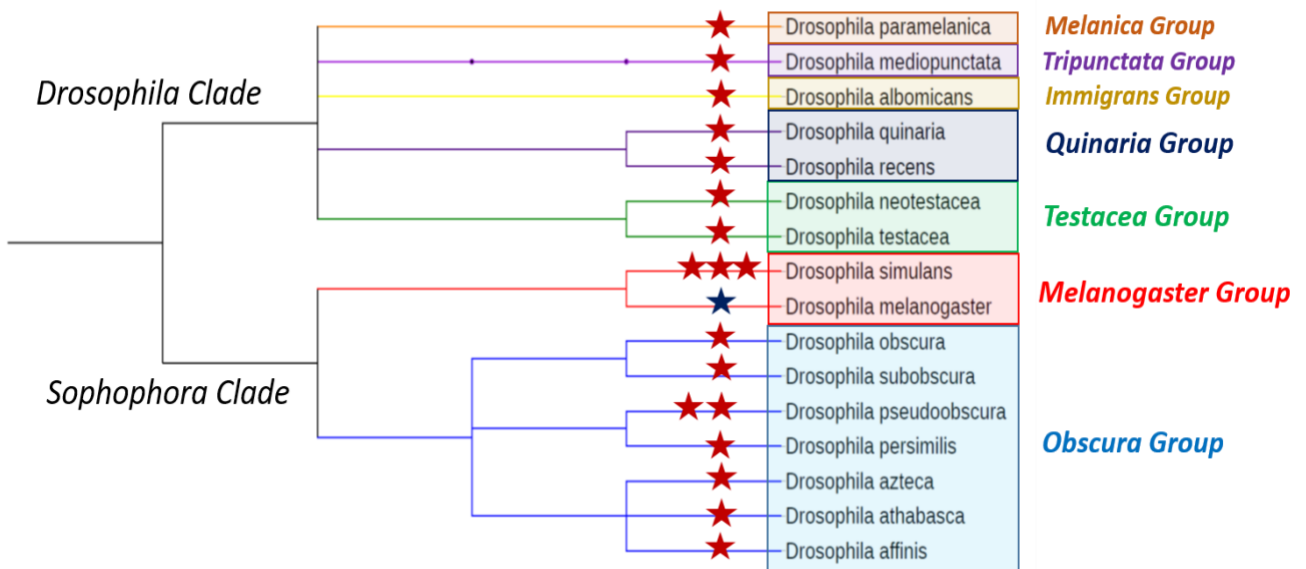


Figure 0.3 : **Distribution phylogénétique des espèces de Drosophiles chez lesquelles des distorateurs ont été identifiés.** Chaque étoile rouge figure un système distorateur associé au chromosome X. L'étoile bleue représente le système *SD*, unique système distorateur autosomal.

3. Conflits génétiques et leurs conséquences.

De par leur caractère égoïste, les distorceurs peuvent augmenter en fréquence dans la population, bien qu'ils ne confèrent aucun avantage sélectif à l'individu porteur, pouvant parfois même avoir un coût pour sa fitness. Cette transmission se fait au dépend du reste du génome, ce qui entraîne inévitablement des conflits intra-génomiques pouvant avoir un impact très fort sur l'évolution d'une espèce (Meiklejohn et Tao 2010). Les distorceurs sont régulièrement associés à des cas d'incompatibilité hybride et sont pour cette raison considérés comme un moteur important de spéciation (Presgraves 2008).

a. Evolution des systèmes distorceurs.

- **Extinction de la population :**

Lorsqu'un distorceur est lié au sexe et s'exprime dans le sexe hétérogamétique, ce qui est le cas des systèmes SR des drosophiles, sa diffusion peut conduire à une population unisexuée ou quasi et celle-ci peut s'éteindre (Hamilton 1967). De tels cas n'ont jamais été rapportés mais ils sont à priori difficilement observables dans la nature, ce qui nous amène très certainement à négliger l'implication des distorceurs dans de tels phénomènes. Cependant, chez *D.neotestacea*, on a pu observer la diminution de la taille de la population en lien avec la présence de chromosomes distorceur Xsr (Pinzone et Dyer 2013).

- **Polymorphisme stable des distorceurs en absence de suppression :**

Plusieurs mécanismes peuvent limiter l'invasion d'un distorceur dans une population en l'absence d'élément supprimeur. Un état polymorphe stable requiert que l'avantage de transmission du distorceur soit contrebalancé par des effets délétères sur l'individu porteur, selon un mode fréquence-dépendant. Ces effets délétères peuvent provenir du distorceur lui-même ou de mutations génétiquement liées lorsque l'allèle distorceur est associé à une inversion chromosomique, Dans le cas de *gamete killing*, comme expliqué plus haut, le distorceur impacte la fertilité des mâles chez lesquels il s'exprime en détruisant la moitié ou presque de ses gamètes (Policansky et Ellison 1970; Hauschteck-Jungen et Maurer 1976; Hartl et al 1967). L'individu portant le distorceur sera donc moins fertile qu'un individu non porteur, si celui-ci ne compense pas par une surproduction de gamètes. Dans les espèces polyandres, les mâles porteurs d'un distorceur sont typiquement de faibles compétiteurs spermatiques face à des mâles non distorceurs (Atlan et al. 2004; Price et al. 2008; Angelard et al 2008; Sutter et Lindholm 2016). De même, chez *Mimulus guttatus*, bien que la distorsion ne s'exprime que chez les femelles, l'élément *D* entraîne un coût chez les mâles. En effet, chez les mâles homozygotes DD on observe une diminution de la fertilité, ce qui permettrait d'empêcher la fixation du distorceur dans les populations (Fishman et Kelly 2015).

Introduction

Outre l'impact sur la fertilité, les distorceurs sont souvent associés à des inversions chromosomiques. L'absence de recombinaison favorise alors l'accumulation de mutations délétères génétiquement liées au distorceur (Dobzhansky et Sturtevant 1938; Stalker 1961; Pieper et Dyer 2016). Chez *D. recens* on observe une diminution de la fréquence des chromosomes X_{SR} en lien avec des mutations délétères accumulées dans les inversions liées au distorceur (Dyer et al 2007).

De même chez *D. pseudoobscura* le chromosome X_{SR} est à l'état polymorphe dans les populations naturelles. Il est resté à la même fréquence pendant plus de 50 ans, sans qu'aucun élément suppresseur n'ait été détecté (Beckenbach 1996).

Exemple : Maintien de l'haplotype t dans les populations naturelles.

La particularité de l'haplotype t par rapport à d'autres types de systèmes distorceurs est qu'il est présent dans les 4 sous-espèces de *Mus musculus* (Lyon 2003). L'étude des polymorphismes entre le chromosome sauvage et l'haplotype t a permis de déterminer que la première des 4 inversions associées à l'haplotype t a eu lieu il y a 3 Ma, donc avant la divergence entre les sous espèces (Artzt et al 1982; Herrmann 1986; Hammer et Silver 1993; Burt et Trivers 2006). Bien que transmis à plus 90% par les mâles hétérozygotes t/+ (Lyon 2003; Herrmann et Bauer 2012), l'haplotype t reste à faible fréquence dans les populations naturelles (10-25%) (Hammer et Silver 1993; Kristin G Ardlie 1998; Manser et al. 2011). Plusieurs facteurs expliquent cette faible fréquence.

Tout d'abord, les inversions favorisent l'accumulation de mutations délétères, l'haplotype t est notamment porteur d'un ou plusieurs loci récessifs qui affectent la fertilité et la viabilité des mâles t/t (Ardlie et Silver 1996; Herrmann et Bauer 2012; Lindholm et al. 2013). Il en résulte de très fortes incompatibilités génétiques. Lors du croisement d'une femelle t/+ avec un mâle t/+, on observe une diminution de 40% du nombre de descendants.

Le comportement reproducteur des femelles semble également impacter la fréquence de l'haplotype t dans les populations. Il a été montré que les femelles t sont capables d'éviter la fécondation par un mâle t incompatible. En outre en cas de polyandrie, comportement reproducteur fréquemment retrouvé dans les populations naturelles de *Mus musculus*, les mâles porteurs de l'haplotype t sont désavantagés dans la compétition spermatique face à des mâles +/+ (Manser et al 2017a). La polyandrie entraîne d'ailleurs une diminution de la fréquence de l'haplotype t en population expérimentale comparé à la monoandrie (Manser et al. 2017b).

Introduction

- ***Emergences d'éléments supprimeurs.***

Lorsqu'un distorateur se répand dans une population la sélection naturelle favorise alors tout élément génétique, nonlié au distorateur et qui est capable de s'opposer à l'effet du distorateur (Fisher 1930; Hamilton 1967).

Dans le cas des distorateurs liés au sexe, la pression de sélection en faveur d'éléments supprimeurs s'exerce aussi en raison du biais de sexe ratio induit par le distorateurs. D'après le principe de Fisher les populations tendent toujours vers un sexe ratio de 1:1. Ainsi, dans une population au sexe ratio déséquilibré, les allèles portés par le sexe rare ont une plus forte probabilité d'être transmis que les allèles portés par le sexe majoritaire. Dans le cas des systèmes SR, où le distorateur est situé sur le chromosome X, si un allèle porté par les mâles permet d'augmenter le nombre de mâles dans la descendance, il est alors fortement sélectionné (Clark 1987; Vaz et Carvalho 2004). Ainsi, on trouve des supprimeurs sur les autosomes et des chromosomes Y résistants. Les chromosomes Y résistants ont un avantage direct par rapport à des Y sensibles, ils peuvent se fixer très rapidement dans la population, profitant de l'avantage du sexe rare (Clark 1987; Unckless et al 2015). Des Y résistants ont été identifiés dans de nombreux systèmes SR (Stalker 1961; Carvalho et al 1997; Jaenike 1999; Montchamp-Moreau et al 2001; Branco et al. 2013; Unckless et al 2015). Dans ses systèmes, les Y résistants coexistent souvent avec des supprimeurs situés sur les autosomes (Carvalho et Klaczko 1993; Stalker 1961; Cazemajor et al 1997; Jaenike 1999; Keais et al. 2017). La sélection de supprimeurs autosomaux dépend du biais de sexe ratio dans la population.

- ***Système cryptique.***

Si la suppression est complète, le système devient cryptique. Supprimeurs et distorateurs sont alors indétectables d'un point de vue phénotypique dans la population (retour à un sexe ratio équilibré) (Jaenick 2001, Helleu et al. 2015). C'est le cas du système Winters chez *Drosophila simulans* (Tao et al. 2007a). Le système peut se maintenir dans cet état de manière indéfini mais à condition que ni le distorateur ni les supprimeurs n'aient d'effet délétère (Vaz et Carvalho 2004). Une fois que le distorateur a perdu son avantage de transmission il peut disparaître par dérive ou être contre-sélectionné s'il est délétère. De la même manière, en l'absence de distorateur, les éléments supprimeurs vont également perdre leur avantage sélectif et peuvent alors disparaître (Jaenick 2001, Burt et Triver 2006, Helleu et al. 2015).

Introduction

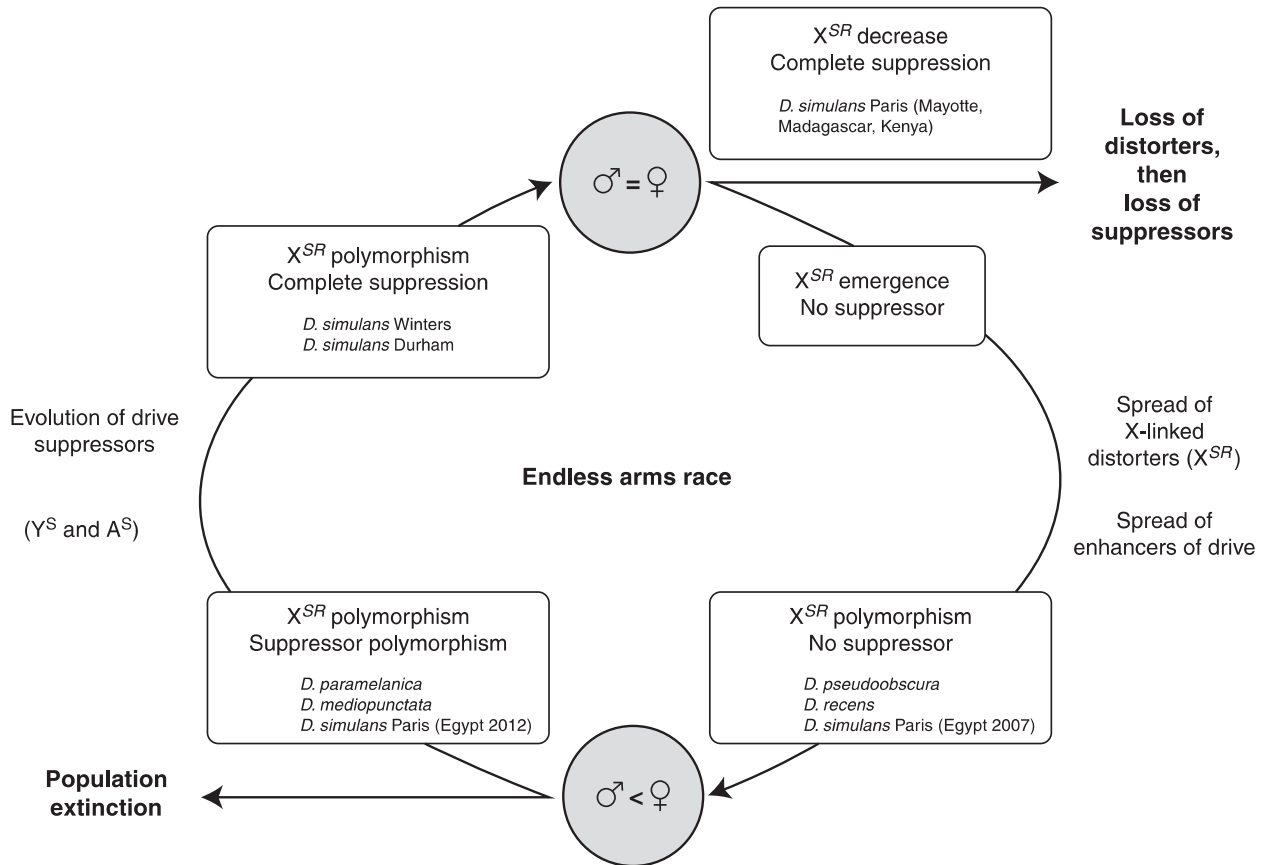


Figure 0.4 : *Conflit intra-génomique induit par l'évolution des chromosomes X_{SR} dans les populations naturelles. L'émergence du distorateur induit une course à l'armement entre le chromosome X et le reste du génome (de Helleu et al. 2015).*

b. Des systèmes aux acteurs multiples.

Comme le montre les scénarios évolutifs énoncés précédemment les systèmes distorateurs impliquent de multiples acteurs. On peut distinguer deux classes : les distorateurs et les supprimeurs. L'évolution de supprimeurs peut mener le système à un état cryptique. Cependant la répression du distorateur peut également conduire à l'émergence d'enhancers de la distorsion qui vont rétablir la transmission préférentielle du distorateur malgré la présence d'éléments supprimeurs. Pour être efficaces et sélectionnés ces enhancers doivent être génétiquement liés aux distorateurs. De la même manière de nouveaux éléments supprimeurs peuvent apparaître, conduisant à un phénomène de course aux armements entre deux parties du génome (Jaenike 2001).

Introduction

Exemple : Les multiples acteurs du système *Sd* chez *D. melanogaster*.

Le système SD chez *D. melanogaster* est une bonne illustration de la multiplicité des acteurs impliqués. Outre le distorateur (*Sd*) et sa cible (*Rsp*), des éléments modificateurs interviennent également dans ce système. Certains renforcent l'activité de *Sd*. Un enhancer, *E(Sd)*, est localisé dans la région péricentromérique du chromosome 2L (Sharp et al 1985). De la même manière un élément « stabilisateur », *Stabilizer of Segregation Distorter* (*St(Sd)*) a été identifié à l'extrémité du chromosome 2R (Sandler et Hiraizumi 1960). La perte de *St(SD)* va déstabiliser le phénotype de SD, augmentant sa variance. Enfin un élément génétique permettant d'augmenter la force de distorsion a été identifié sur le chromosome 2R, *Modifier of Segregation Distorter* (*M(Sd)*) (Hiraizumi et al 1980). Inversement des éléments suppresseurs, *Su(Sd)*, ont également été identifiés sur le chromosome X (Hiraizumi et Thomas 1984) et le chromosome 3 (Trippa et Loverre 1975). L'identité de tous ces éléments reste encore inconnue.

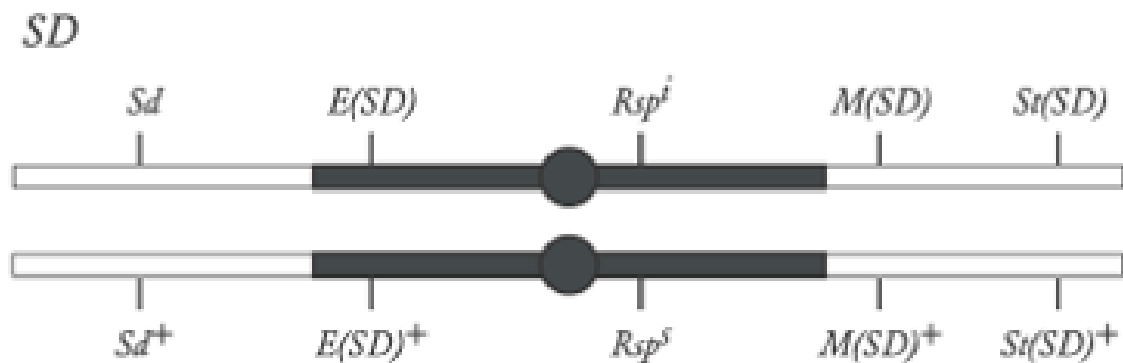


Figure 0.5 : **Organisation du système SD.** Localisation des différents acteurs du système, *Sd*, *Rsp*, *E(SD)*, *M(SD)* et *St(SD)* (de Burt et Trivers 2006).

c. Impacts évolutifs des distorateurs de ségrégation.

Cette course aux armements impose un coût important au génome en forçant la sélection d'éléments suppresseurs qui sont bénéfiques dans le contexte distorateur mais qui peuvent avoir un coût par ailleurs. Cette sélection répétée de suppresseurs et de distorateurs va augmenter la vitesse d'évolution du génome, ce qui peut avoir de multiples conséquences.

- **Evolution du génome – complexification.**

L'évolution des distorateurs est souvent associée à des événements de duplication. Parmi les distorateurs identifiés, nombreux sont ceux provenant d'une duplication de gènes. Comme pour les systèmes SD (Larracunte et Presgraves 2012) et *Stellate* (Hurst 1996) chez *D. melanogaster* ou encore *importin-a2*, fort candidat pour être un distorateur chez *D. neotestacea* (Pieper et al. 2018). Le distorateur *Dox* provient de la duplication de *MDox* dans le système Winters chez *D. simulans* (Tao et al 2007b). Les duplications apparaissent comme un moteur de l'émergence des distorateurs et un moyen pour le gène dupliqué de se maintenir. En effet, dans la plupart des cas, étant donnée la redondance, le gène dupliqué va disparaître peu après son émergence par pseudogénéisation.

Introduction

Cependant, il persiste parfois et dans ce cas deux stratégies sont observées Certains gènes se maintiennent parce qu'ils confèrent un avantage, acquis par subfonctionnalisation ou neofonctionnalisation. C'est par exemple le cas pour le gène *Umbrea*, un paralogue de *HP1B* (Levine et al. 2012) qui, par néofonctionnalisation, est devenu nécessaire au maintien des centromères (Chen et al 2010). D'autres gènes arrivent à se maintenir bien qu'ils ne confèrent aucun avantage, en adoptant une stratégie égoïste. Devenir un distorateur est un moyen de se répandre à moins d'être très fortement délétère. Ensuite la duplication d'un élément distorateur peut être un moyen de produire des éléments supprimeurs. Si le distorateur se duplique dans une région non liée du génome, cette nouvelle copie peut être une source de production de petits ARNs qui vont réprimer le distorateur original (Tao et al. 2007b, Lin et al 2018). Des duplications peuvent également se produire au locus cible d'un distorateur et avoir un impact sur sa sensibilité aux distorateurs. C'est le cas du locus satellite *Rsp* dans le système SD chez *D. melanogaster* : les allèles de *Rsp* à faible nombre de copies du satellite (<200) sont insensibles à SD, tandis que des allèles sensibles peuvent avoir plus de 2500 copies de *Rsp* (Wu et al. 1988; Lyttle 1991).

De manière analogue, l'hypothèse de centromere drive est largement fondée sur l'évolution rapide et l'expansion des séquences répétées qui composent les centromères (Malik et Henikoff 2009).

L'hétérochromatine semble jouer un rôle important dans l'évolution des distorateurs et réciproquement. Outre les séquences répétées qui la composent, les protéines impliquées dans la régulation de l'hétérochromatine évoluent également très rapidement. La famille des *heterochromatin protein 1* est une famille de gènes qui évolue très rapidement et qui a connu de nombreuses duplications (Levine et al. 2012). Plusieurs de ces gènes dupliqués sont impliqués dans des conflits génétiques, comme *Umbrea* ou *Oxpecker* (Chen et al. 2010, Levine et al. 2016). *Oxpecker* est un paralogue de *Rhino/HP1D* et est impliqué dans la répression des éléments transposables, autre composant de l'hétérochromatine (Levine et al. 2016). L'évolution rapide de cette famille de gènes et leur implication récurrente dans des conflits génétiques a conduit Levine et al. 2016 à faire l'hypothèse que ces duplications seraient un mécanisme de défense du génome contre les éléments génétiques égoïstes. Outre les protéines de l'hétérochromatine, d'autres familles de gènes montrent une évolution rapide en lien avec des systèmes distorateurs. Chez *Saccharomyces kambucha*, *wtf4* fait partie de la famille des gènes *wtf* qui évoluent très rapidement, et dont plusieurs membres sont identifiés comme des distorateurs de ségrégation de type poison-antidote, ce qui laisse supposer que la distorsion serait un caractère ancestral de cette famille de gènes et la cause de son succès évolutif (López Hernández et Zanders 2018). Il semblerait que certains gènes de cette famille produisent à la fois le poison et l'antidote (*wtf4*, *wtf28*, *wtf13*) tandis que d'autres ont perdu leur capacité à produire le poison mais produisent toujours l'antidote (*wtf2*, *wtf5*, *wtf6*, *wtf18-2* et *wtf26*), pouvant alors s'apparenter à des éléments supprimeurs (López Hernández et Zanders 2018). C'est d'ailleurs ce qui a été montré pour deux gènes de cette famille *wtf13* et *wtf18-2* (Bravo Núñez et al. 2018). *wtf13* (tout comme *wtf4* décrit précédemment) produit deux transcrits, un correspondant au poison agissant en trans et un autre codant pour l'antidote agissant en cis (Bravo Núñez et al. 2018). *Wtf18-2* quant à lui ne produit qu'un seul transcrit, qui correspond à un élément supprimeur qui mime l'action de l'antidote de *wtf13* (Bravo Núñez et al. 2018).

Introduction

- ***Incompatibilité hybride et spéciation.***

Depuis longtemps, les distorceurs de ségrégation méiotique sont proposés comme un moteur de spéciation via l'induction d'incompatibilités hybrides (Frank 1991). Si l'hypothèse d'un lien entre les systèmes SR et la stérilité hybrides mâles a été l'objet de controverses, des preuves empiriques de ce lien commencent à s'accumuler (McDermott et Noor 2010).

La course aux armements conduit à l'accumulation de distorceurs et de supprimeurs dans un même génome, de telle sorte que le système peut parfois devenir cryptique. Cependant tant que le système ne s'est pas répandu dans l'ensemble des populations d'une espèce, certaines restent à l'état naïf, c'est-à-dire sans supprimeurs ni distorceurs. Le croisement entre ces deux types de populations peut produire des hybrides chez lesquels le distorceur n'est pas réprimé, ce qui va affecter leur fertilité. Les systèmes SR peuvent ainsi contribuer au processus de spéciation en permettant l'accumulation de mutations indépendamment dans les deux populations, ce qui peut aboutir à de l'incompatibilité hybride cause de spéciation (Presgraves 2010, McDermott et Noor 2010, Helleu et al. 2015).

La première preuve de l'implication d'un distorceur dans la spéciation a été apportée par le gène *Overdrive* chez *D. pseudoobscura*. *Overdrive* entraîne à la fois de l'incompatibilité hybride et de la distorsion de ségrégation de type SR chez les hybrides de deux sous espèces *D. pseudoobscura pseudoobscura* et *D. pseudoobscura bogonata* (Orr et Irving 2005; Phadnis 2011). Ce type d'observation a été faite dans plusieurs couples d'espèce du genre *Drosophila* (Hauschteck-Jungen 1990; McDermott et Noor 2012; Verspoor et al. 2018; Tao et al 2001; Meiklejohn et al. 2018). Bien que les gènes en cause n'aient pas été formellement identifiés, des cartographies génétiques montrent qu'un même locus peut induire les deux phénotypes, appuyant l'hypothèse de l'implication des distorceurs de ségrégation méiotique dans la spéciation (Phadnis 2011; McDermott et Noor 2012; Zhang et al. 2015).

- ***Evolution des modes de reproduction.***

Les distorceurs de ségrégation méiotique peuvent conduire à une évolution des comportements reproducteurs. L'importance du mode reproduction sur l'évolution du distorceur a été mise en évidence chez la Drosophile et la souris (voir l'exemple de l'haplotype t développé précédemment) (Wedell 2013; Wilkinson et al. 2003; Angelard et al 2008; Pinzone et Dyer 2013; Sutter et Lindholm 2016).

Chez *D. pseudoobscura* il a été montré que le système SR avait entraîné un comportement de polyandrie comme mécanisme de résistance aux distorceurs (Price et al. 2008; 2010). De plus le distorceur entraîne une diminution de la fertilité des mâles porteurs (Price et al. 2008). Les mâles X_{SR} ont un pool de gamètes divisé par deux et cette faiblesse est source d'un désavantage supplémentaire en cas de compétition spermatique avec des mâles X_{ST} . Les femelles auront plus facilement tendance à se ré-accoupler dans les populations où des mâles X_{SR} sont présents ce qui va diminuer la fitness des mâles X_{SR} et donc ralentir la propagation du X_{SR} dans la population.

Cela met en avant une étroite relation entre les modes de reproduction et l'évolution des distorceurs.

Introduction

4. Les distorateurs de ségrégation SR chez *D. simulans*.

Chez *Drosophila simulans*, 3 systèmes SR ont été mis en évidence. Chacun a été nommé d'après le lieu où il a été découvert.

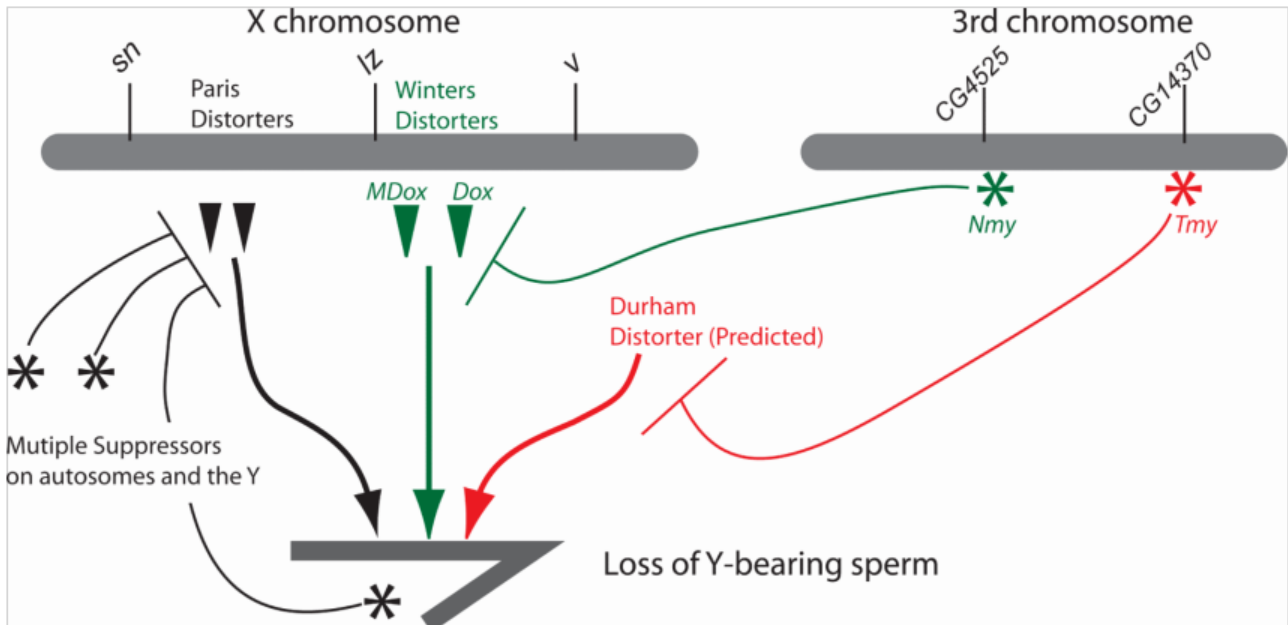


Figure 0.6 : Schéma représentant les acteurs des trois systèmes SR de *Drosophila simulans* (de Meickeljohn et Tao 2010).

a. Le système Durham.

Le système Durham est cryptique chez *D. simulans*. C'est en effet par introgression de segments génomiques de *D. mauritiana* chez *D. simulans* que ce système a pu être mis en évidence (Tao et al. 2001). Ces introgressions ont révélé la présence d'un suppresseur de distorateur *Sex Ratio* sur le chromosome 3L, *Tmy*. En effet le remplacement de l'allèle *Tmy* de *D. simulans* par l'allèle *tmy* de *D. mauritiana* entraîne un biais de sexe ratio, laissant supposer la présence d'un élément distorateur sur le chromosome X. *Tmy* est un suppresseur autosomal dominant, seuls les mâles homozygotes *tmy/tmy* montrent un biais de sex ratio en faveur des femelles dans leur descendance (Tao et al. 2001).

De plus l'introgression de l'allèle *tmy* provoque également la stérilité des mâles hybrides. En effet, les deux phénotypes sont associés à une même région génomique, *tmy*, de 80kb, suggérant fortement l'implication d'un seul gène à effet pléiotrope. Ce système illustre le lien entre un système SR et un cas d'incompatibilité hybride. Cependant l'identité du distorateur lié au chromosome X reste encore inconnue, de même le phénotype cellulaire associé n'a encore jamais été étudié.

Introduction

b. Le système Winters.

Tout comme le système Durham, ce système est cryptique chez *D. simulans*. Des introgressions de *D. sechellia* dans *D. simulans* ont mis en évidence la présence d'un supprimeur autosomal dominant sur le chromosome 3L (Tao et al. 2007a). Afin d'identifier cet élément supprimeur, les auteurs ont réalisé une cartographie fine de la région en utilisant des lignées introgressées de *D. mauritiana* dans *D. simulans*. Couplé à des analyses de recombinants ils ont identifié une région de 7kb, laissant penser qu'un seul gène était responsable de la suppression, ils l'ont nommé *Nmy*. *Nmy* est composé de séquences répétées inversées de 380 pb, capables de former une structure en tige-boucle, tandis que l'allèle non supprimeur *nmy* présente une délétion d'une des séquences répétées. Etant donné la faible capacité codante de *Nmy* cela suggère que *nmy* est une perte de fonction via des modifications structurales du transcrit.

Par cartographie de lignées recombinantes, Tao et al. 2007b ont identifié une région sur le chromosome X associée à la distorsion. C'est ensuite grâce à une homologie de séquence avec *Nmy* qu'ils ont identifié précisément l'élément distorteur, *Dox*, au sein de cette région. *Nmy* proviendrait de la retrotransposition du distorteur lui-même. *Dox* présente des homologies de séquences avec deux autres éléments génétiques sur le chromosome X: *MDox* (Mother of Dox) et *EDox* (Enhancer of Dox). Les auteurs suggèrent que *MDox* serait un ancien élément distorteur. *EDox* serait un enhanceur de *Dox*, en effet la distorsion est moins forte en l'absence de *EDox* (Tao et al 2007b). *Dox* proviendrait de la duplication de *MDox* dont la fonction reste encore inconnue. Bien que *Dox* et *MDox* ont tous deux un potentiel codant très limité, il semblerait que *Dox* code une protéine exprimée dans les testicules (communication personnelle Jeffrey Vendanayagam, Eric Lai lab).

La structure de *Nmy* ainsi que l'homologie de séquence entre distorteur et supprimeur a longtemps laissé penser à un système d'ARN interférant capable de réprimer l'expression du distorteur. Cette hypothèse a très récemment été validée par Lin et al en 2018 qui ont montré que *Nmy* produisait des hpRNA capables de réprimer *Dox* et *MDox*. En réprimant la voie des ARN interférants, par mutation de *dcr-2* et *ago2*, on observe une augmentation de l'expression de *Dox* et *MDox*, du fait de l'incapacité de *Nmy* à produire des siRNA.

Le phénotype cellulaire du système Winters se caractérise par un défaut post-méiotique de condensation de la chromatine, empêchant l'individualisation des spermatozoïdes contenant le chromosome Y. De plus le système Winters est dépendant de la température, à 18°C la distorsion est totale avec 93% de femelles en moyenne, tandis qu'à 25°C on retrouve un sexe ratio plus équilibré avec 60% de femelles (Tao et al. 2007b).

Outre le supprimeur *Nmy*, des Y résistants au système Winters ont également été identifiés. En effet il y a un fort polymorphisme des chromosomes Y de *D. simulans* dans leur capacité à résister au distorteur *Dox*. Selon le chromosome Y testé on observe entre 63% et 98% de femelles. Une étude de transcriptomique comparative entre Y résistant et Y sensible a montré que 75% des gènes spécifiques des testicules étaient sur-exprimés en présence d'un Y résistant. Inversement les gènes reliés à la

Introduction

mitochondrie et aux glandes accessoires montrent une diminution d'expression (Branco et al. 2013). Bien que le mode d'action du supprimeur soit aujourd'hui bien connue dans ce système, il reste encore une inconnue. Comment le distorreur agit-il ?

En 1959, Faulhaber rapporte un cas de distorsion de ségrégation *Sex-ratio* dans une population de *D. simulans* collectée en Californie (Faulhaber 1967). Le biais de sexe ratio est associée à une mutation autosomale récessive sur le chromosome 3 et montre une sensibilité à la température. Elle réalise une étude cytologique et remarque un défaut de développement de la tête du spermatozoïde. Malheureusement les souches ont été perdues avant de pouvoir aller plus loin dans l'analyse génétique de ce système, il est donc difficile de dire si ce système correspond à l'un des trois systèmes SR connus chez *D. simulans* ou à un système indépendant. Cependant les observations faites rappellent fortement le système Winters.

c. Trois systèmes indépendants ?

Le troisième système SR présent chez *D. simulans* est le système Paris, que je développerai dans la section suivante. Au sein d'une même espèce, il y aurait donc trois systèmes SR (Figure 0.6). Se pose alors la question de l'indépendance de ces systèmes.

Le distorreur de Winters et ceux du système Paris sont différents. De plus le système Winters apparait comme beaucoup plus ancien que le système Paris. De la même manière *Tmy*, le supprimeur du système Durham, ne co-localise pas avec *Nmy* et ne semble pas capable de supprimer le biais de sexe ratio induit par *Dox* ou les distorresseurs du système Paris (Tao et al 2007b).

Cependant l'étude récente menée par Lin et al 2018 a révélé des homologies de séquences entre les supprimeurs *Tmy* et *Nmy*. De plus, tout comme *Nmy*, *Tmy* produit des siRNA capables de cibler *Dox*. Pourtant les distorresseurs associés à ces deux systèmes sont différents. En effet par homologie de séquence le distorreur du système Durham vient tout juste d'être identifié, il a été nommé UDox (communication personnelle Jeffrey Vendanayagam, Eric Lai lab). Il semblerait donc que les systèmes Durham et Winters partagent un certain nombre d'homologie. Remettant en question l'indépendance fonctionnelle des systèmes Winters et Durham, ces observations posent plus généralement la question de la récurrence des systèmes SR chez *D. simulans*. En effet, les ARNi interférents semblent être au cœur d'une course aux armements chez cette espèce. D'autres systèmes impliquant des ARNi interférents pourraient être mis en évidence chez *D. simulans* (communication personnelle Jeffrey Vendanayagam, Eric Lai lab).

5. Le système Paris.

Le système Paris est le troisième système SR connu chez *D. simulans*. Il a été mis en évidence en 1995 par croisement entre deux souches de *D. simulans* d'origines géographiques différentes. La première provenait de Tunisie, la deuxième des Seychelles. Le fort biais de sexe ratio observé parmi les hybrides F1, et l'analyse génétique a mené à conclure à la présence d'un chromosome X_{SR} dans la souche des Seychelles (Merçot et al. 1995). L'une des particularités du système Paris est que la distorsion n'est associée à aucune inversion chromosomique ce qui a rendu possible la cartographie génétique du distorteur.

a. Le phénotype cellulaire.

Dans le système Paris, la distorsion de ségrégation résulte d'anomalies lors de la méiose. Chez les mâles porteurs du X_{SR}, on observe une non-disjonction des chromatides sœurs du chromosome Y en anaphase II (Cazemajor et al 2000). Dans certains cas les deux chromatides sœurs migrent ensemble vers le même pôle, dans d'autres cas elles sont étirées entre les deux pôles. Dans le dernier cas, les chromatides sœurs restent reliées par un pont chromatinien (Figure 0.7). Il s'en suit un défaut d'élongation des spermatides, empêchant la formation de spermatozoïdes fonctionnels contenant le chromosome Y (Cazemajor et al. 2000). Dans les cystes des mâles porteurs du X_{SR} on peut observer un déficit en spermatides contenant le chromosome Y. Dans la descendance de ces mâles X_{SR} on peut toutefois observer des mâles XO (non porteur d'un chromosome Y) (Cazemajor et al. 2000). Cependant, bien que viable les mâles XO chez *D. simulans* sont stériles.

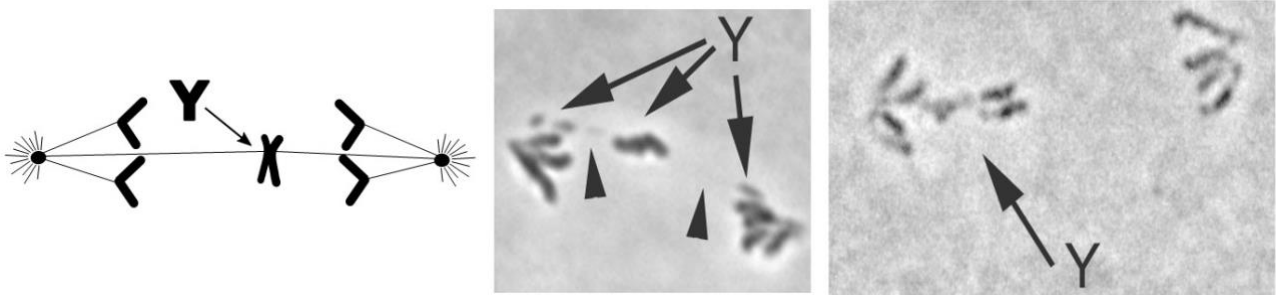


Figure 0.7 : Phénotype cellulaire du système Paris. Non disjonction des chromatides sœurs du chromosome Y en anaphase de méiose II (Cazemajor et al. 2000)

b. Impact du distorteur sur la fertilité.

La destruction de presque la moitié du pool spermatique a un coût pour la fertilité des mâles porteurs (Angelard et al 2008; Atlan et al. 2004). Les mâles X_{SR} ou X_{ST} ont la même capacité de fertilité s'ils ne sont pas en compétition et laissés en permanence en présence de 2 femelles. En revanche si on regarde le nombre de descendants d'une femelle après un unique accouplement on observe que les mâles X_{SR} sont moins fertiles que les mâles X_{ST}. De plus si un seul mâle est mis en présence de 10 femelles pendant 24h, cette diminution de fertilité est encore plus importante, montrant que les mâles

Introduction

X_{ST} sont capables de féconder plus de femelles en 24h que les mâles X_{SR} (Atlan et al. 2004). La limitation spermatique subie par les mâles X_{SR} diminue leur capacité à féconder (Angelard et al. 2008). Enfin des expériences de compétition, où une femelle est accouplée successivement avec un mâle X_{ST} puis un mâle X_{SR}, ou inversement, ont montré que le sperme des mâles X_{SR} est incapable de déplacer le sperme des mâles X_{ST} qui se sont accouplés avant lui. En revanche le sperme des mâles X_{ST} va déplacer celui des mâles X_{SR}, augmentant leur succès reproducteur face à des mâles X_{SR}. En cas de compétition spermatique les X_{SR} sont ainsi largement désavantagés (Atlan et al. 2004).

Ce coût explique parfaitement le résultat d'une expérience d'évolution expérimentale réalisée afin de suivre la dynamique du X_{SR}. Contrairement aux prédictions en l'absence de coût, le X_{SR} est rapidement perdu en population expérimentale, remplacé par le X_{ST}. Cette perte s'explique par le fort désavantage des mâles X_{SR} en cas de compétition avec des mâles X_{ST}.

Ces expériences ont montré que le distorateur avait un impact important sur la fertilité des mâles porteurs, elles ne sont toutefois pas nécessairement représentatives des conditions de reproduction en population naturelle. La question du coût du X_{SR} sur la fertilité des mâles en condition naturelle reste ouverte.

c. Bases génétiques de la distorsion.

Une cartographie fine par recombinaison a permis d'identifier deux régions associées à la distorsion sur le chromosome X (Montchamp-Moreau et al. 2006). La distorsion du système Paris implique donc deux éléments génétiques localisés sur le chromosome X qui agissent de manière épistatique. Si un seul des deux éléments est présent il n'y a pas de distorsion. Le premier élément est contenu dans une duplication en tandem de 37.5kb contenant 6 gènes (Montchamp-Moreau et al. 2006, Fouvry et al. 2011). Le deuxième élément est un allèle déficient du gène *HP1D2*, situé à 110kb de la duplication (Helleu et al. 2016) (Figure 0.8).

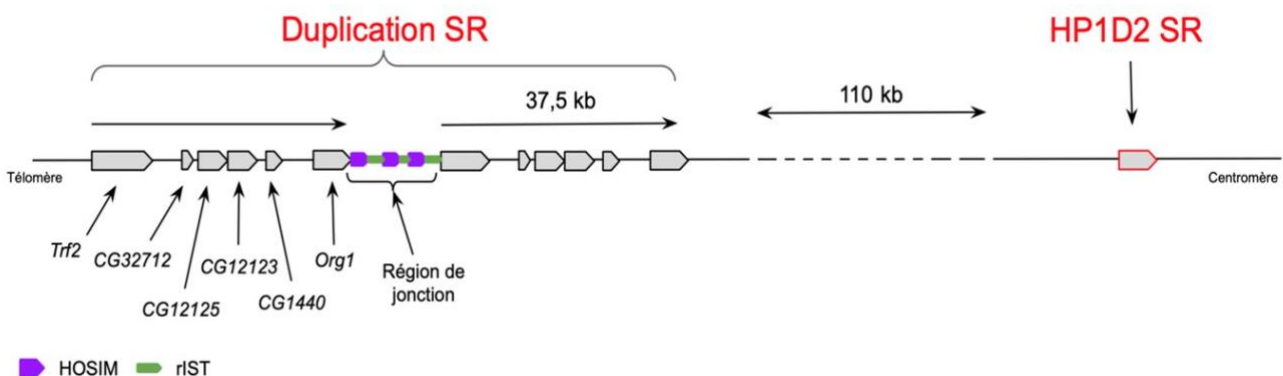


Figure 0.8 : Schéma des deux loci impliqués dans la distorsion de ségrégation méiotique du système Paris sur le chromosome X.

Introduction

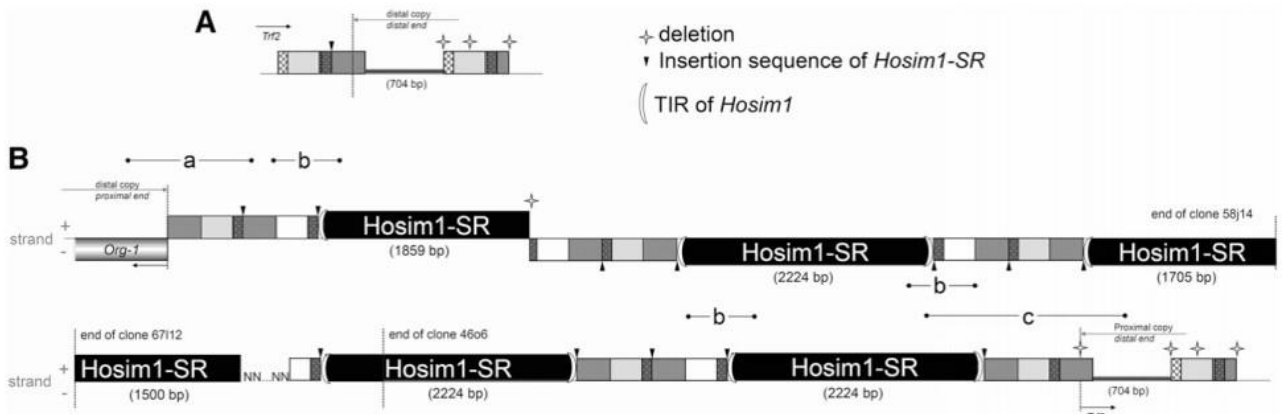
- **La Duplication.**

La duplication va du second intron du gène *Trf2* au gène *org-1*. Les analyses de séquences ont révélé que les deux copies de la duplication sur le chromosome X_{SR} utilisé pour la cartographie sont identiques sur 10,3 kb, suggérant que l'événement de duplication daterait de moins de 500 ans (Fouvry et al. 2011). Elle contient:

- **CG32712** : jeune gène apparu il a 2 à 5 millions d'années, issu d'une séquence non codante (Levine et al 2016), il est exprimé spécifiquement dans la lignée germinale mâle. Sa fonction reste inconnue.
- **CG12125** et **CG12123** : Gènes de fonction inconnue et dont la délétion ne semble pas affecter la viabilité ou la fertilité (flybase).
- **CG1440** : gène prédit pour coder une protéine avec un domaine homologue à une peptidase de type cystéine chez *Saccharomyces cerevisiae*. Ces fonctions restent inconnues (flybase).
- **org-1** : gène codant pour un facteur de transcription avec un domaine T permettant sa liaison à l'ADN. Il est impliqué dans l'identité des cellules souches des muscles viscéraux circulaires chez *D. melanogaster* (Schaub et al. 2012).
- **Trf2** : Code un facteur de transcription (TATA box binding protein-related factor 2) qui a deux isoformes protéiques. Exprimé dans les cellules germinales, *Trf2* est essentiel pour la condensation de la chromatine dans les cellules préméiotiques. Un défaut d'expression de *Trf2* peut entraîner une mauvaise ségrégation des chromatides sœurs. Il a récemment été montré que *Trf2* interagissait avec *Rhino* pour réguler l'expression des clusters de piRNA hétérochromatiques (Andersen et al. 2017).

Les 6 gènes de la duplication sont exprimés dans les testicules. L'existence de polymorphismes de séquence entre la copie proximale et la copie distale a permis de déterminer que, les deux copies de *Trf2*, *org-1* et *CG12125* sont exprimées. Pour *CG1440* et *CG12123* l'absence de polymorphisme entre les deux copies ne permet pas de déterminer de quelles copies proviennent les transcrits. Concernant *CG32712* une délétion de 62pb au niveau du deuxième exon a introduit un codon stop prématuré dans la copie proximale, ce qui laisse supposer que celle-ci ne s'exprime pas.

Introduction



Les deux copies de la duplication sont séparées par une région composée de l'alternance entre un élément transposable, *Hosim*, et des motifs nucléiques de 687pb, les *rISTs* (Fouvry et al. 2011) (Figure 0.9). *Hosim* est un élément transposable de classe II qui fait partie de la superfamille des hAT. Il est présent chez *D. simulans* et *D. sechellia*. Le premier intron de *Trf2* contient deux motifs *IST* séparés par environ 700pb. Les *rIST* (rearranged *IST*) sont un réarrangement de ces *IST*. *Hosim* et les *rIST* sont transcrits mais pas traduits (Fouvry et al. 2011). Le nombre de copie de ce motif, *Hosim-rIST*, reste encore inconnu, car la nature répétée de cette région n'a pas encore permis son assemblage.

- **HPID2.**

HPID2, est un jeune gène de la famille de gènes des Heterochromatin protein (HP1). Les *HP1* sont impliqués dans la régulation de l'hétérochromatine. Comme les autres membres de la famille des *HP1*, *HPID2* est composé de deux domaines : un ChromoDomain (CD) et un ChromoShadowDomain (CSD) (Figure 0.10.B). Le CD permet l'interaction avec les histones, tandis que le CSD est impliqué dans les interactions avec les autres protéines et notamment les autres *HP1*. Dans les populations naturelles on trouve deux catégories d'allèles de *HPID2*, des allèles *HPID2_{ST}* fonctionnels et des allèles *HPID2_{SR}* responsables de la distorsion (Helleu et al. 2016). Tout d'abord on observe une perte d'expression significative de la forme SR de *HPID2* comparée à la forme ST (Figure 0.10.A). De plus, certains allèles SR de *HPID2* montrent une délétion du CSD. La perte d'expression (Figure 0.10.A) ou des délétions du CSD entraînent la distorsion, en présence de la duplication (Helleu et al. 2016).

Introduction

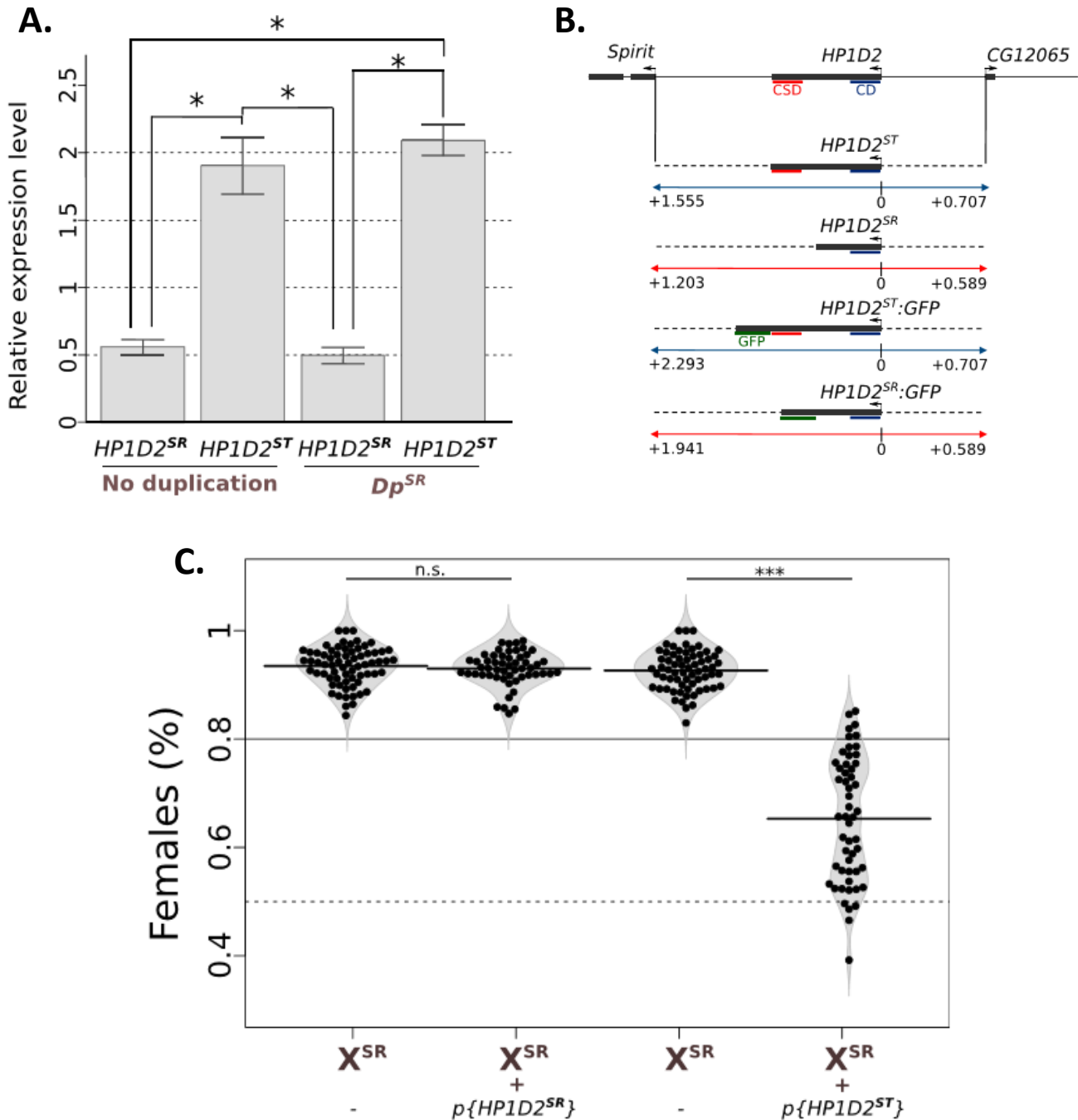


Figure 0.10: Caractérisation fonctionnelle du rôle de $HP1D2$ dans la distorsion de ségrégation (Helleu et al. 2016). A. Mesure du niveau d'expression (RT-qPCR) des allèles SR et ST de $HP1D2$ en présence ou en l'absence de la duplication. B. Structure des transgènes de $HP1D2$. Le ChromoDomain (CD) est représenté en bleu et le ChromoShadowDomain (CSD) est représenté en rouge. C. Pourcentage de femelles dans la descendance de mâle portant un X^{SR} et une copie additionnelle de $HP1D2^{SR}$ ou $HP1D2^{ST}$.

Introduction

Une étude cytologique, utilisant des transgènes de *HP1D2* fusionnés avec la GFP (*HP1D2::GFP*), a montré que la protéine HP1D2 est exprimée exclusivement dans les spermatogonies (Figure 0.11.A). HP1D2 est essentiellement enrichie au niveau du chromosome Y et co-localise avec les histones H3K9me3 qui sont caractéristiques de l'hétérochromatine (Figure 0.11.B). Ces observations soutiennent l'hypothèse de l'implication de *HP1D2* dans la condensation de l'hétérochromatine du chromosome Y en amont de la méiose. Une perte de fonction de HP1D2 entrainerait donc un défaut de cette condensation ce qui pourrait perturber la ségrégation des chromatides sœurs durant la méiose. Cependant il faut noter qu'en présence de l'allèle endogène *HP1D2st* aucune différence de localisation n'a été observée entre *HP1D2::GFP^{sr}* et *HP1D2::GFPst*.

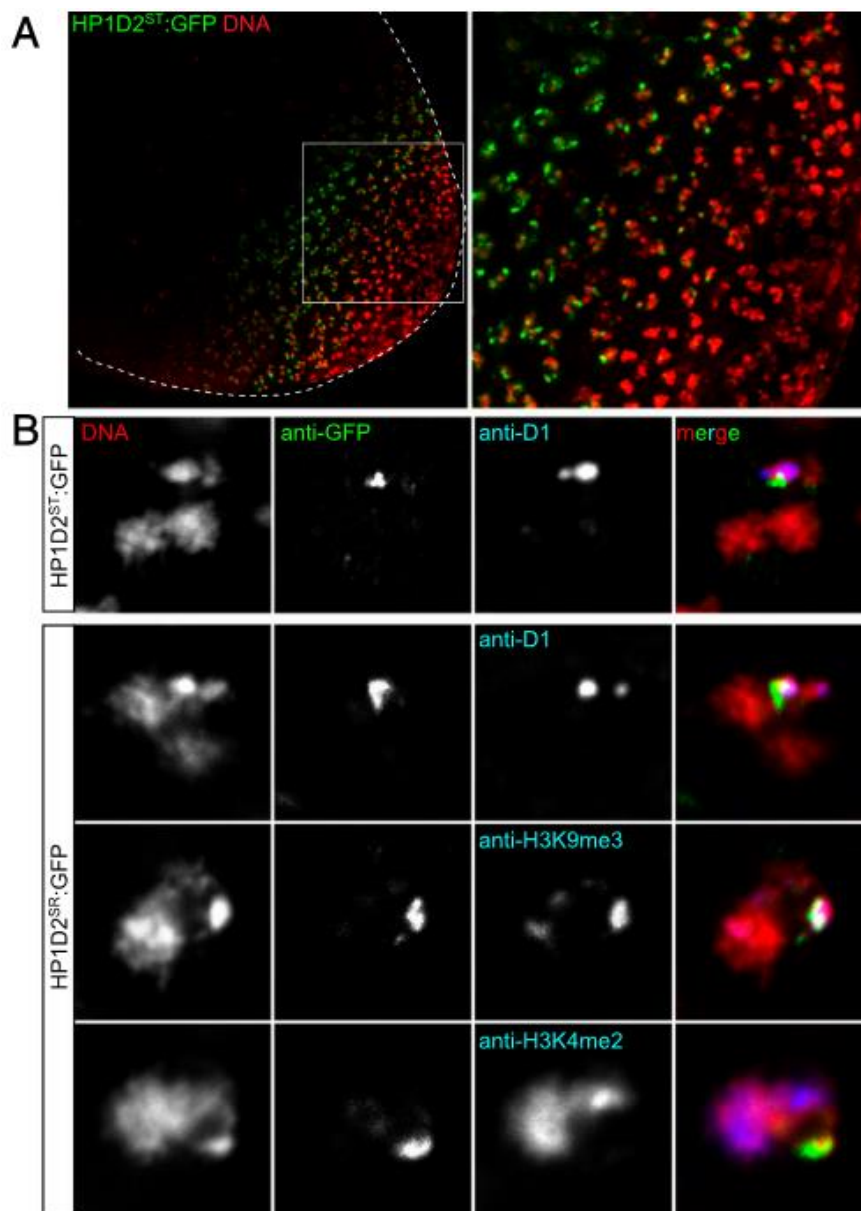


Figure 0.11 : *Etude cytologique de la localisation de HP1D2* (Helleu et al. 2016). A. Image de microscopie confocale montrant l'expression de *HP1D2^{sr}::GFP* dans les testicules. B. Image confocale de testicules de males portant l'allèle *ST* ou *SR* de *HP1D2::GFP*. Immunomarquage de la GFP (vert), la protéine D1 (enrichie sur le chromosome Y au niveau des séquences riches en AT), l'histone H3K9me3 (marque de l'hétérochromatine) et l'histone H3K4me2 (marque de l'euchromatine).

Introduction

HPID2 est issu de la duplication de *Rhino/HPID*, il y a 15 à 22 millions d'année au sein du clade Sophophora (Levine et al. 2012). Il a lui-même subi, à plusieurs reprises, des événements de duplications. Chez *D. erecta* et *D. orena*, *HPID2* semble en cours de pseudogénération, tandis qu'il a été perdu chez *D. melanogaster* (Helleu et al. 2016). Son évolution rapide suggère une implication dans des conflits génétiques.

d. Les éléments supprimeurs.

Bien que les X_{SR} du système Paris soient présents dans un grand nombre de populations de *D. simulans*, la distorsion y est rarement exprimée en raison de la présence d'autosomes supprimeurs et d'Y résistants.

La suppression autosomale a été caractérisée pour la première fois dans une lignée dérivée d'une population des Seychelles (Merçot et al. 1995). Cette lignée, montre une suppression complète, à laquelle les deux autosomes principaux, le II et le III, contribuent (Cazemajore et al. 2000). Des supprimeurs autosomaux ont également été trouvés dans plusieurs autres populations : Kenya, Madagascar, Réunion (Atlan et al. 2003), suggérant qu'ils sont habituels dans les populations où des X_{SR} sont présents.

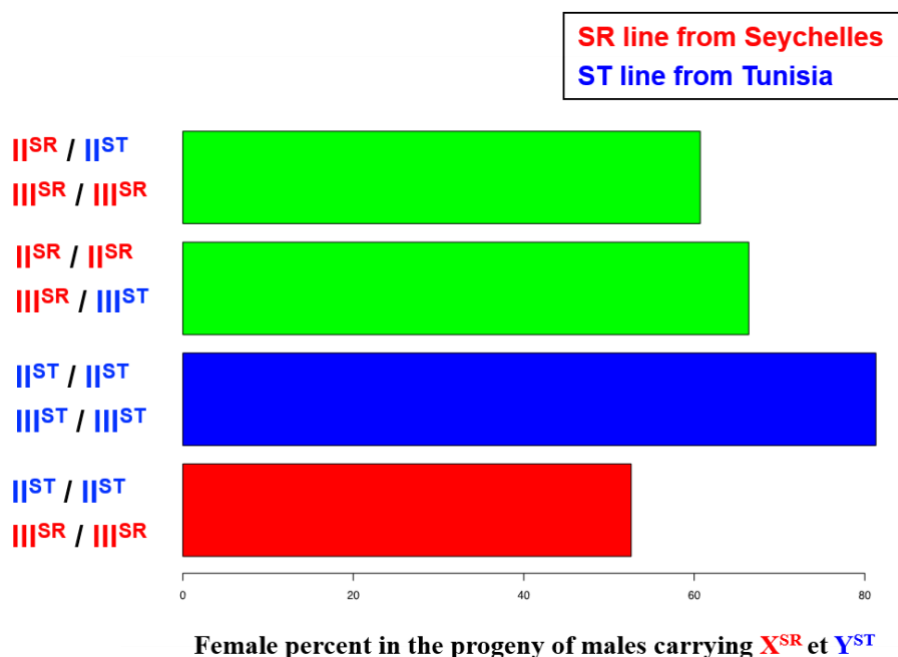


Figure 0.12 : La suppression autosomale (adaptée de Cazemajor et al. 2000).

Des chromosomes Y résistants sont également retrouvés dans les populations où le distorateur est présent (Cazemajor et al. 1997). On observe une très grande diversité de la capacité de résistance des chromosomes Y entre populations et même au sein d'une même population (Montchamp-Moreau et al. 2001). Face à un même X_{SR} certains chromosomes Y ne réduisent que partiellement le biais tandis que d'autres permettent le retour à un sexe ratio équilibré, avec tous les intermédiaires. La cause de la résistance du chromosome Y reste inconnue. S'agit-il de la présence d'un élément supprimeur sur le chromosome Y ou d'une différence de sensibilité de la cible du distorateur ? Le chromosome Y de

Introduction

D. simulans étant entièrement hétérochromatique (Bachtrog 2013), principalement composé de séquences répétées, et au vu des variations phénotypiques, la deuxième hypothèse semble plus probable.

Les chromosomes Y résistants sont supposés évoluer et se fixer beaucoup plus rapidement que les autosomes supprimeurs, car directement sélectionnés. Les chromosomes Y résistants auraient donc la capacité de se fixer avant que des supprimeurs ne soient sélectionnés sur les autosomes. Il est donc étonnant de retrouver dans une même population une suppression autosomale et des Y résistants. Ceci peut s'expliquer si les supprimeurs autosomaux émergent avant que les Y résistants ne s'installent ou si la résistance du chromosome Y n'est pas suffisante pour rééquilibrer le sexe ratio.

e. Dynamique du système.

Les premières études de génétique des populations ont révélé un foyer de XSR en Afrique de l'Est (Tanzanie, Kenya) et surtout dans les îles de l'Océan Indien (Seychelles, Madagascar, La Réunion) et en Arabie (Atlan et al. 1997). En revanche en Afrique du Nord, Afrique de l'Ouest, Europe, Moyen Orient, Amérique et Océanie, le distorateur est en très faible fréquence, souvent non détecté (Atlan et al. 1997; Jutier et al. 2004; Bastide et al. 2013). La suppression quant à elle est complète dans la quasi-totalité des populations d'Afrique sub-saharienne, y compris les populations où le distorateur semble absent. Ceci peut s'expliquer par le caractère cryptique du système, laissant supposer que dans ces populations le distorateur est en déclin parce qu'il a perdu son avantage de transmission. De fait, le déclin du distorateur a été observé dans trois populations, respectivement à Madagascar, à Mayotte et au Kenya (Bastide et al. 2011). Par exemple, à Madagascar, la fréquence du XSR est passée de 56% en 2000, 29% en 2004 et 14,9% en 2008. Cette régression rapide du XSR indique que les distorateurs ont un coût même en condition de suppression complète. En revanche, le système SR semble s'être répandu récemment en Afrique du Nord et au Moyen Orient. En effet en Egypte, la fréquence du XSR était de 6% en 2007 et de 62% en 2012. De même en Israël, le XSR était à une fréquence de 3% en 2000 puis de 72 % en 2006. Des analyses moléculaires ont révélé que la duplication des XSR du Moyen Orient montre le même haplotype qu'en Afrique, indiquant que celui-ci aurait récemment migré d'Afrique sub-saharienne vers le Moyen Orient (Bastide et al. 2013).

Introduction

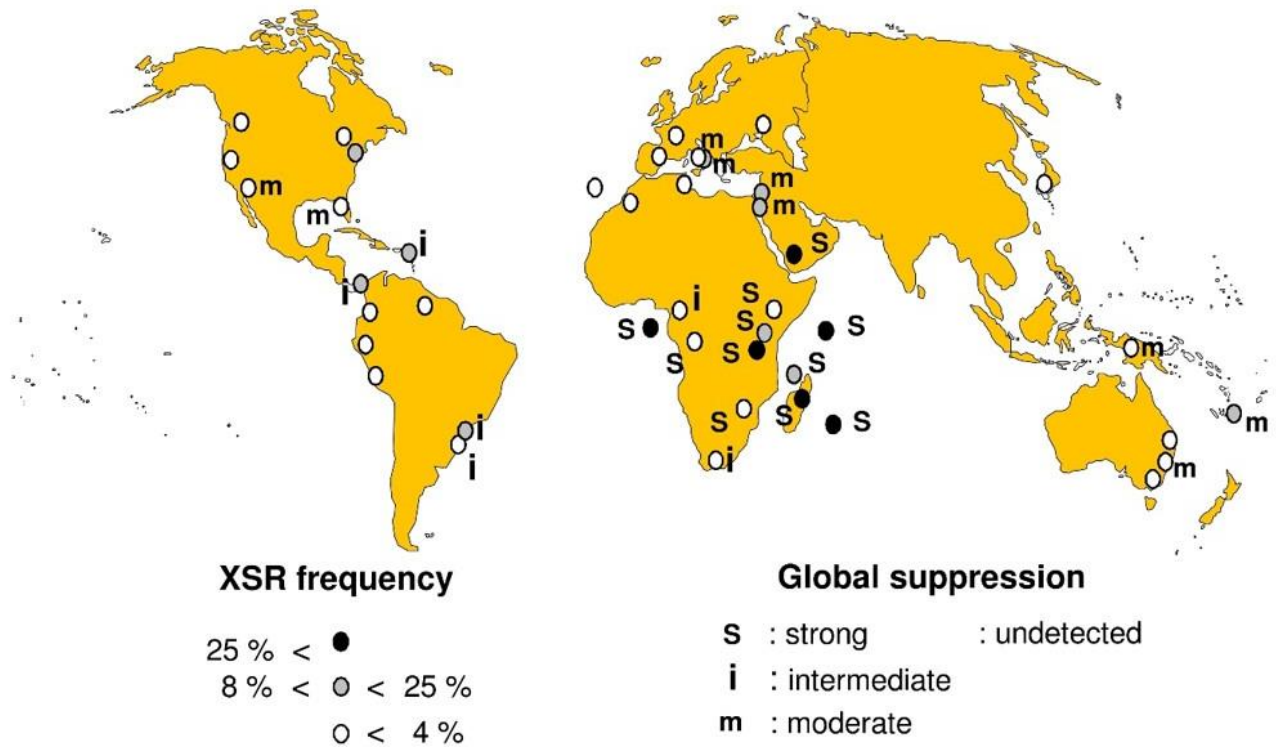


Figure 0.13 : Carte de la répartition géographique du XSR et de la suppression.

La répartition géographique du système Paris suggère qu'il a émergé sur le continent Africain, très certainement en Afrique sub-saharienne, puis a migré vers les îles de l'Océan Indien et l'Afrique du Nord. Il apparaît comme un système *Sex Ratio* extrêmement dynamique, dont les variations de fréquence sont très rapides. Cela donne une opportunité unique d'étudier la dynamique d'un système *SR* en cours d'évolution. Selon les populations étudiées, différents stades de cette course aux armements sont représentés.

6. Objectifs de la thèse.

Le système Paris est un système SR particulièrement intéressant à étudier à la fois du point de vue évolutif et du point de vue moléculaire.

Le système Paris a une dynamique d'évolution extrêmement rapide, ce qui permet d'étudier quasiment en temps réel l'évolution d'un système SR en population naturelle.

D'autre part, les acteurs du système SR Paris sont multiples. Il y a tout d'abord deux éléments distorceurs localisés sur le chromosome X qui agissent de manière épistatique dont une protéine de l'hétérochromatine (Helleu et al 2016). Il y a ensuite des supresseurs autosomiaux et également des chromosomes Y résistants.

Pourtant les bases moléculaires de ce système restent encore largement méconnues. L'objectif de ma thèse était d'étudier les bases génétiques et moléculaires du système Paris. Pour cela j'ai choisi d'avoir une approche globale du système en étudiant en parallèle les différents acteurs du système pour mieux comprendre leur dynamique tout en les replaçant dans un contexte évolutif.

Le premier Chapitre de ma thèse est une revue qui fait état des dernières avancées sur les bases moléculaires des systèmes distorceurs chez la drosophile. Elle met en évidence des processus communs à tous ces systèmes : la régulation de l'hétérochromatine, les voies des petits ARNs et le transport nucléaire.

Le deuxième Chapitre porte sur les supresseurs autosomiaux, sur lesquels nous avons alors que très peu d'éléments. Mon objectif était de faire une cartographie par QTL de ces supresseurs. Elle m'a permis de révéler la complexité du déterminisme génétique de la suppression.

Le troisième Chapitre est axé sur la deuxième source de suppression du système Paris, les chromosomes Y résistants. De par sa nature hétérochromatique, le chromosome Y est extrêmement difficile à explorer. Mon objectif était de comprendre l'évolution et la nature de la résistance des chromosomes Y. L'étude de la dynamique du système en population naturelle couplé à des analyses de séquences de différents chromosomes Y ont permis de retracer l'histoire évolutive du chromosome Y au sein du système Paris.

Le Chapitre 4 s'intéresse à la distorsion. J'ai complété l'étude du rôle de HP1D2 dans la distorsion par des observations cytologiques dans différent contextes génétiques. Cela m'a permis de repenser le modèle mécanistique du système, ouvrant de nouvelles pistes de réflexion.

Chapitre 1

Revue

Chapitre 1 : Revue

Bien que des distorateurs de ségrégations méiotiques aient été trouvés dans un grand nombre d'espèces, c'est au sein du genre *Drosophila* qu'ils sont les plus étudiés. En effet, on ne dénombre pas moins de 19 systèmes distorateurs dans 16 espèces différentes. La plupart de ces systèmes ont été décrits uniquement d'un point de vue phénotypique mais certains ont fait l'objet de recherches intensives durant la dernière décennie qui ont permis de comprendre partiellement les mécanismes moléculaires mis en jeu.

Comme son titre l'indique cette revue fait état des dernières avancées concernant les mécanismes moléculaires sous-jacents au système distorateur chez la drosophile. Ce sont ces récentes avancées qui sont décrites et discutés dans la synthèse intitulée « **Meiotic drive mechanisms: lessons from Drosophila** » dont je suis premier auteur. Cette revue a été rédigé à l'occasion d'une édition spéciale "Natural and synthetic gene drive systems" édité par Tom Price, Anna Lindholm et Nina Wedell dans le journal *Proceeding B*, en 2019.

Chez la *Drosophile* l'ensemble des systèmes connus s'expriment chez les mâles et agissent par *sperm-killing*. Le distorateur empêche la formation des spermatozoïdes qui ne le contiennent pas. Ce biais de transmission se fait au détriment du reste du génome ce qui entraîne un conflit intra-génomique. Dans un premier temps nous discutons les conditions nécessaires à l'émergence et au maintien de tel distorateur. L'émergence d'un distorateur est souvent associé à un évènement de duplication tandis que la cible est généralement liée à une région hétérochromatique. Le cœur de la revue est ensuite axé sur les mécanismes, tout d'abord cellulaires puis moléculaires. Nous mettons en avant trois mécanismes moléculaires vers lesquels l'ensemble des systèmes chez la *Drosophile* semblent converger mais qui sont également retrouvés dans d'autre espèces. Il s'agit de la régulation de l'hétérochromatine, les voies régulations par les petits ARNs et le transport nucléaire. Enfin nous terminons par les conséquences évolutives des distorateurs de ségrégation.

De par leur complexité il a été pendant longtemps difficile, voire impossible, de comprendre les mécanismes moléculaires mis en jeu dans ces systèmes. La plupart des résultats que nous présentons ont été rendus possibles grâce aux récentes avancées technologiques en matière de séquençage ou d'édition du génome. Bien qu'aucun de ces systèmes n'aient encore été complètement résolu, l'utilisation de ces nouvelles technologies devraient nous permettre de mieux comprendre les rouages de ces systèmes dans les années futures.

*Article 1***Meiotic drive mechanisms: lessons from *Drosophila***

Authors: Cécile Courret¹, Ching-Ho Chang², Kevin H.-C. Wei³, Catherine Montchamp-Moreau¹, Amanda M. Larracuent².

Affiliations :

1. Evolution Génome Comportement et Ecologie, CNRS, IRD, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Gif sur Yvette 91190, France.
2. Department of Biology, University of Rochester, Rochester, New York, United States of America.
3. Department of Integrative Biology, University of California, Berkley, CA.

In press in *Proceeding B: Special Issue Natural and synthetic gene drive systems***Abstract:**

Meiotic drivers are selfish genetic elements that bias their transmission into gametes, often to the detriment of the rest of the genome. The resulting intragenomic conflicts triggered by meiotic drive create evolutionary arms races and shape genome evolution. The phenomenon of meiotic drive is widespread across taxa but is particularly prominent in the *Drosophila* genus. Recent studies in *Drosophila* have provided insights into the genetic origins of drivers and their molecular mechanisms. Here we review the current literature on mechanisms of drive with an emphasis on sperm killers in *Drosophila* species. In these systems, meiotic drivers often evolve from gene duplications and targets are generally linked to heterochromatin. While dense in repetitive elements and difficult to study using traditional genetic and genomic approaches, recent work in *Drosophila* has made progress on the heterochromatic compartment of the genome. Although we still understand little about precise drive mechanisms, studies of male drive systems are converging on common themes such as heterochromatin regulation, small RNA pathways, and nuclear transport pathways. Meiotic drive systems are therefore promising models for discovering fundamental features of gametogenesis.

Keywords: Meiotic drive – *Drosophila* – Genetic conflict – Heterochromatin

INTRODUCTION

Nearly a century has passed since Gershenson discovered the first documented case of meiotic drive in *Drosophila obscura* (Gershenson 1928). While conducting genetic crosses from flies he had caught near Moscow, he noticed that some males sired only female or primarily female progeny. A careful analysis then allowed Gershenson to conclude that the responsible gene (hereafter "the driver") was located on the X chromosome and caused "*spermatozoa with the Y chromosome to participate in the fertilization process in but an insignificant number*". This phenomenon, called "sex-ratio distortion" (hereafter SR) is widespread, particularly in *Drosophila*. In its broader definition, a meiotic driver is a selfish genetic element that biases its own transmission into the functional gametes of heterozygous individuals at the expense of the alternative allele. There are two ways to be over-represented: *gamete killing* in males (disruption of alternative sperm) and *gonotaxis* in females (preferential transmission into the ovule). Meiotic drive systems are sex-specific and most known meiotic drive systems in *Drosophila* act in males through *sperm killing*. During spermatogenesis, the driver prevents the formation of functional sperm that does not have a copy of itself. This efficient strategy is referred to as "interference" because it is basically a game for (at least) two players: a driver and its target (reviewed in Burt et Trivers 2006).

The emergence of a gamete killer is by its very nature detrimental for the "fair" genes that ensure their evolutionary success by being advantageous for their carriers. It sets the stage for an intragenomic conflict between, on one side, the driver and linked genomic regions and, on the other side, the rest of the genome. Drive enhancers promote transmission of the driver and drive suppressors restore fair segregation. This arms race triggers rapid evolution towards a new genomic balance.

Since Gershenson's seminal paper, meiotic drivers have been reported in a range of animals, plants and fungi (Lindholm et al. 2016). However, with few exceptions, we lack even basic information about their identity and how they operate. There are multiple reasons for this. First, genetic mapping is often difficult, because for many known systems, the drive locus (or loci) lies within a chromosomal inversion or other nonrecombining regions (Stalker 1961; Dobzhansky et Sturtevant 1938; Pieper et Dyer 2016). Second, as a consequence of intragenomic conflict, drive systems typically involve multiple genetic elements with epistatic interactions making it difficult to identify individual components (Larracuenté et Presgraves 2012; Wu et Beckenbach 1983; Montchamp-Moreau et al. 2006). Finally, drive systems involve processes and genomic regions that are still poorly understood, such as heterochromatin.

Here we review recent advances in our understanding of meiotic drive systems, with a focus on sperm killers in *Drosophila*. We discuss the origins of meiotic drivers and the role of gene duplication. We review recent developments on drive mechanisms and note emerging themes involving small RNA pathways, heterochromatin formation, and nuclear transport. Finally, we discuss possible evolutionary consequences of meiotic drive.

GENETIC ORIGINS OF DRIVERS

Where do drivers emerge?

In males, a meiotic drive system consists of at least two loci: a driver and a target. In heterozygote, the driver skews transmission rates in its favor by destroying target-bearing gametes in trans. This requires that the two loci are genetically linked, but on opposite homologous chromosomes to avoid creating a “suicide” chromosome where the driver causes its own destruction. Therefore, drivers are typically linked to a resistant (insensitive) allele of the target.

Since tight linkage between these loci is critical for the success of drivers, these systems tend to arise in low- or non-recombining regions of the genome (e.g. sex chromosomes and heterochromatin), or acquire modifiers of recombination (e.g. chromosomal inversions) to create or reinforce linkage. Most known meiotic drive systems are X-linked (Sup. Table 1), where the lack of recombination between X and Y chromosomes provides fertile grounds for driver systems to emerge. Autosomal drivers, however, can occur in heterochromatic regions around the centromere and telomere, where there is little recombination. For example, the autosomal *Segregation Distorter* system of *D. melanogaster* (*SD*) involves at least two loci: the driver (*Segregation distorter*, or *Sd*) is in the proximal region of chromosome 2L, and its target (*Responder* or *Rsp*) corresponds to a large block of tandem satellite repeats in the pericentric heterochromatin of chromosome 2R (Larracuente and Presgraves 2012).

Most known meiotic drive systems are more complicated and involve additional modifiers of drive. Suppressors counteract the driver to restore Mendelian transmission ratios, and enhancers increase the strength of the driver. While suppressors can be unlinked from the driver and the target, enhancers must be linked to the driver (Figure 1.1b). Chromosomal inversions are often associated with meiotic drive systems (Stalker 1961; Dobzhansky et al Sturtevant 1938; Pieper et al Dyer 2016), as they may either suppress recombination between the drivers and their target (Larracuente and Presgraves 2012) or reinforce the linkage between the drivers and enhancers (Wu and Beckenbach 1983).

The disparity in the number of known sex-linked and autosomal drivers (Sup. Table 1) is in part due to ascertainment bias: it is easier to detect distorted sex chromosome transmission because it manifests as a deviation from the Fisherian sex ratio (1:1) (Hamilton 1967). Distorted autosomal transmission can go unnoticed in the absence of a visible or scored molecular marker linked to the distorter. For example, the autosomal *SD* system in *D. melanogaster* was discovered because of the unexpected recovery of visibly-marked chromosomes in a genetic screen unrelated to meiotic drive (Sandler et al 1959). It is easier to detect drivers that are currently segregating, as the effects of a driver are only apparent in heterozygotes. Fixed drivers will be cryptic unless they are introduced into a population or species naïve to the driver.

Molecular origins of drivers

The molecular identities of loci that cause meiotic drive are unknown in many systems. However, we find a pattern among the known systems in *Drosophila* (6 partially known systems among the 19 identified, see Sup. Table 1): most of these drivers originate in gene duplication events. Meiotic drivers correspond to duplicated genes in the *SD* system of *D. melanogaster* (Larracuente and Presgraves 2012), Winters SR system of *D. simulans* (Tao et al. 2007b), and a similar origin is suspected in a SR system in *D. neotestacea* (Pieper et al 2018). Newly duplicated genes are often deleterious due to a dosage imbalance, while their redundancy also allows them to evolve a new beneficial function (neofunctionalization). In the case of drive systems, some duplicated genes can become selfish and survive despite having a fitness cost (Figure 1.1a). Many known suppressors of drive also originated from gene duplications (Lin et al. 2018; Zhang et al. 2015) (Figure 1.1b). Nearly all known meiotic drive systems in *Drosophila* involve gene duplication, with one exception in *D. pseudoobscura*, where a meiotic drive locus (*Overdrive*) arose from a rapidly evolving single copy gene (Phadnis and Orr 2009). While gene duplication is a common theme among drive systems, the genetic basis of drive is often more complex, and involves epistatic interactions among multiple loci (Montchamp-Moreau et al. 2006; Helleu et al. 2016).

CYTOLOGICAL DEFECTS DURING SPERMATOGENESIS

There are two categories of drivers: those that induce meiotic failure, and those whose defects are observed at post-meiotic stages (Sup. Table 1). The cytological phenotype of the Paris SR system in *D. simulans* is one of the best described. In SR males, the first cytological defects occur during meiosis as aberrant segregation of the Y chromosome during anaphase II. In some cases, the two Y chromosome sister chromatids migrate together to the same meiotic spindle pole. In other cases, they appear stretched between the poles, the two daughter nuclei remain connected by a chromosome bridge and the resulting spermatids fail to elongate (Cazemajor et al. 2000). Meiotic defects also occur in *D. pseudoobscura* and *D. athabasca* SR males, where the Y chromosome "degenerates" during anaphase II, appearing as a chromatin mass with no centromeric activity (Novitski et al 1965). Finally, meiotic defects are inferred when SR males give rise to XO sons (lacking a Y chromosome and usually sterile) in *D. subobscura* (Hauschteck-Jungen et al 1972) and *D. paramelanica* (Stalker 1961).

In other *Drosophila* drive systems, the observed cellular defects are postmeiotic and occur as spermatids differentiate into mature sperm. In the *D. simulans* Winters SR system, half of the early spermatids (inferred to be Y-bearing sperm) display a nuclear condensation defect (Tao et al. 2007b). Defects during spermatid differentiation are also observed in *D. affinis* (Unckless et al 2015) and *D. neotestacea* (Pieper et al 2018). In *D. melanogaster* males heterozygous for *SD*, about half of the post-elongation spermatids show defects in chromatin condensation (Tokuyasu et al 1977) and the histone-to-protamine transition (Hauschteck-Jungen et Hartl 1982).

It is important to note that the stage at which cytological defects are observed can differ from when the driver acts. For example, while defects occur during meiosis II in the Paris SR system, the driver is only expressed in spermatogonia (Cazemajor 2000). In *D. melanogaster*, although the first visible defects of *SD* occur postmeiosis, temperature sensitivity assays suggest that the driver acts early in meiosis (Mange 1968). However, the timing of *SD* may vary between *SD* chromosomes (Matthews et Mortin 1983), and suppressors and drivers may differ in their timing (Hihara 1974; Hiraizumi 1993). Moreover, cellular phenotypes are often highly variable (Cazemajor et al 2000; Unckless et al 2015). Many drive systems are influenced by factors like temperature (Mange 1968; Matthews et Mortin 1983; Hihara 1974; Denell et al 1969; Tao et al. 2007a) or age (Hiraizumi et Watanabe 1969; Sandler et Hiraizumi 1961; Montchamp-Moreau et Cazemajor 2002; Carvalho et Klaczko 1992).

MOLECULAR MECHANISMS OF DRIVE

Heterochromatin binding proteins

The first implication of a heterochromatin protein in meiotic drive was in the *D. simulans* Paris SR system where the distortion results from an interaction between two X-linked drive loci. The first drive locus maps to a 37-kb tandem duplication containing 6 genes, however the molecular identity of the causal element within this duplication is still unknown (Montchamp-Moreau et al. 2006; Fouvry et al. 2011). The second driver corresponds to *HP1D2* (Cazemajor 2000), a young and rapidly evolving member of the HP1 (Heterochromatin protein 1) gene family that is involved in heterochromatin organization. *HP1D2* originated from a duplication of *HP1D/rhino* 15-22 Mya ago in the *Sophophora* subgenus (Levine et al. 2012). *HP1D2* is expressed in premeiotic male germ cells and specifically binds the Y chromosome, which is entirely heterochromatic in *D. simulans*. The Paris SR system requires both the tandem duplication and a dysfunctional allele of *HP1D2* to drive. This suggests that *HP1D2* prepares the Y chromosome for meiosis (Figure 1.1d). Heterochromatin-binding proteins, including rhino, are essential for the regulation of some piRNA clusters in *D. melanogaster* ovaries (Klattenhoff et al. 2009). *Rhino* has strongly female-biased expression, primarily in the germline (Volpe et al. 2001). piRNA regulation is not well understood in the male germline, however it is possible that *HP1D2* plays a role. The other drive locus in the Paris SR system (the duplication) contains part of *Trf2*, a core transcription initiation factor that interacts with rhino to facilitate piRNA cluster expression in *D. melanogaster* (Montchamp-Moreau et al. 2006; Andersen et al. 2017). Both the deletion of *HP1D2* and duplication of *Trf2* support the hypothesis that the piRNA pathway is involved in the Paris SR system (Figure 1.1f).

Small RNA pathways

The role of small RNAs in drive is well studied in the *D. simulans* Winters SR system, where the duplication of the X-linked driver called *Dox*, gave rise to an autosomal suppressor called *Nmy* (Tao et al. 2007b). *Nmy* makes a hairpin RNA (hpRNA) that is processed into endogenous short interfering RNAs (endo-siRNAs) that target the driver (Lin et al. 2018). Similarly, another autosomal suppressor of the *D. simulans* Durham SR system, *Tmy*, encodes an hpRNA targeting the Winters X-linked driver (Lin et al. 2018), which suggests that these two *D. simulans* SR systems may not be independent. The *Stellate* system is suspected to be a cryptic drive system in *D. melanogaster* (Hurst 1996) (but see Belloni et al. 2002). *Stellate* (*Ste*) is an X-linked multicopy gene whose product, if left unsuppressed, leads to the accumulation of crystal-like structures in testes premeiotic germ cells (Bozzetti et al. 1995). *Suppressor of Stellate* (*Su(Ste)*) is a multicopy Y-linked gene family paralogous to *Ste*. *Su(Ste)* loci generate small Piwi-interacting RNAs (piRNAs) that suppress *Ste* (Aravin et al. 2004). *Ste* and *Su(Ste)* independently amplified to high copy number on the X and Y chromosomes, respectively (Kogan et al. 2000). Deletions of the Y-linked *Su(Ste)* region cause low fertility or sterility in males, depending on the X-linked *Ste* copy number, and also have skewed sex ratios toward female offspring (Palumbo et al. 1994). However, it is unclear whether the deletion of the *Su(Ste)* region itself or the overexpression of *Ste* causes the meiotic drive (Belloni et al. 2002). In both the Winters and *Stellate* systems, small RNAs generated from duplications of the driver suppress drive, but through different silencing pathways (piRNA and endo-siRNA respectively, Figure 1.1e). Interestingly, mutations in piRNA pathway genes enhance drive in the *SD* system of *D. melanogaster* (Gell et Reenan 2013), suggesting that piRNAs may also be involved in this drive system.

Nuclear transport

One of the best-studied autosomal drive systems, *SD* in *D. melanogaster*, may involve a nuclear transport defect. The driver is a truncated duplication of *Ran GTPase Activating Protein* or *RanGAP* (the driver is referred to as *Sd-RanGAP*). *Sd-RanGAP* is missing a nuclear export signal (NES) site and a SUMO domain (Merrill 1999) and thus is mislocalized to the nucleus (Kusano et al 2001). Normally, the cytoplasmic localization of *RanGAP* and the nuclear localization of its corresponding guanine nucleotide exchange factor *RanGEF* (or *RCC1* in *Drosophila*) are critical for establishing the *Ran* gradient. The *Ran* gradient controls many important cellular processes from nuclear transport of proteins and some RNAs, to nuclear envelope assembly, and heterochromatin formation (Quimby 2003). Interestingly, both the overexpression of wild type *RanGAP* (Kusano et al 2002), and multiple copies of an unknown enhancer, can cause *RanGAP* mislocalization and drive even in the absence of the *Sd-RanGAP* duplication (Kusano et al 2002; Temin 1991). The catalytic activity of *Sd-RanGAP* is required for drive, and the drive phenotype is rescued by overexpressing *RanGEF* or *Ran* (Kusano et al 2001), suggesting that drive is a result of disrupting the *Ran* gradient, perhaps due to defects in nuclear transport. Nuclear transport is also implicated in *D. neotestacea*, where an X-linked

duplicated copy of importin- α is overexpressed in SR males and is a promising candidate for the driver (Pieper et al 2018).

As nuclear transport is important for both small RNA pathways and the histone-to-protamine transition in spermatogenesis, perturbations could lead to the chromatin condensation defects found in several drive systems (section 4a). In the case of *SD*, the target is a pericentromeric satellite repeat, which produces small RNAs (Gell et Reenan 2013), however, it is still unclear how Sd-RanGAP interacts with the satellite repeat. It is possible that the production of small RNAs coming from the target is disrupted (Figure 1.1f). Alternatively, dysfunctional nuclear transport may interfere with heterochromatin regulation by preventing some critical RNAs or proteins from interacting with their target (Figure 1.1g). These possibilities are not mutually exclusive.

CONSEQUENCES OF DRIVE

Deleterious effects of drivers.

While meiotic drivers gain an evolutionary advantage by biasing their own transmission rate, they are inherently deleterious to the host genome. Because of the loss of Y-bearing sperm, driver males produce about half of functional sperm as non-driver males (Policansky et Ellison 1970; Hauschteck-Jungen et Maurer 1976; Angelard et al 2008; Hartl et al 1967). The impact on male fertility can be proportionally greater than sperm loss, especially for species with multiple mating and sperm competition (Angelard et al 2008; Price et al. 2008; Atlan et al. 2004; Sutter et Lindholm 2016). Another consequence of SR drive is that abnormal segregation the Y chromosome can lead to the production of XO males, which are sterile. This occurs in *D. simulans* (Cazemajor et al 2000), *D. pseudoobscura* (Henahan et Cobbs 1983), *D. paramelanica* (Stalker 1961), *D. testacea* (Keais et al. 2017) and *D. neotestacea* (James et Jaenike 1990). There is one known exception in *D. affinis*, where XO males are fertile and produce only sons (Unckless et al 2015; Voelker et Kojima 1972) in the presence of SR, suggesting that the production of XO males in this species is associated with a resistance mechanism. Besides fertility costs, the fixation of SR meiotic drivers may result in extreme scarcity or complete loss of one sex and therefore the extinction of the population (Hamilton 1967).

Arms races via rapid evolution or gene duplication

In most cases, suppressors that counteract drivers should be favored by natural selection, as they restore host fitness and/or re-balance skewed segregation (Hamilton 1967). However, drivers that overcome suppression will quickly spread in the population and the reduction of host fitness will subsequently lead to selection for mutations that re-establishes suppression, and so on.

Arms races are expected to occur between loci with antagonistic relationships. The clearest case is in the co-amplification of a pair of antagonistic mouse genes (Cocquet et al. 2009; 2010): the X-linked multicopy genes (*Slx* and *Slx1l*) and the Y-linked multicopy gene (*Sly*). SLX/SLXL1 are activators of sex chromosome-encoded genes while SLY is a repressor (Cocquet et al. 2012). Interestingly, knockdown of SLX/SLXL1 in the testes causes a male-biased sex ratio, and reciprocally, knockdown of SLY causes a female-biased sex-ratio (Cocquet et al. 2012). These genes may have co-amplified as a result of a conflict over sex chromosome transmission. Increases in *Slx/Slx1l* copy number lead to increases in expression that could overcome *Sly*-induced repression, thus favoring X chromosome transmission. Increases in *Sly* copy number would either restore sex ratio or distort transmission in favor of the Y chromosome. The sex chromosomes of primates, cats, and pigs also have multicopy genes (Lucotte et al. 2018; Brashear et al 2018; Skinner et al. 2016; Nam et al. 2015), which could have resulted from similar conflicts. Similar systems exist in *Drosophila* species such as the *Ste* and *Su(Ste)* loci in *D. melanogaster* (Hurst 1996; Ellison et Bachtrog 2019) (Figure 1.1b). On the neo-sex chromosomes of *D. miranda* (Mahajan et al. 2018), some neo-Y genes are more highly amplified, resulting in a neo-Y chromosome nearly twice the size of their homologous neo-X chromosome. Neo-sex chromosomes are generally more gene-rich than ancient sex chromosomes, and therefore may be hot spots for drivers and their suppressors.

Recurrent positive selection on drivers and suppressors are likely consequences of arms races. In *D. melanogaster*, both longitudinal and population genetic data suggest that *SD* chromosomes turnover rapidly, with new variants displacing old ones over short time periods (Temin 1991; Presgraves et al. 2009; Brand et al 2015). Different *SD* haplotypes in European (Brand et al 2015) and African populations (Presgraves et al. 2009; Brand et al. 2015) experienced independent selective sweeps. The target satellite repeat (*Rsp*) also evolves rapidly—the organization of the repeat suggests that they originated before the divergence between *D. melanogaster* and the *D. simulans* clade species, however, the target of drive is missing in the *D. simulans* clade (Larracuenta 2014). In the *D. simulans* Winters SR system, both the driver *Dox* and its suppressor *Nmy*, show signatures of recurrent selection consistent with the model of repeated rounds of drive and suppression of drive (Kingan et al 2010).

Unlike the *SD* system, the targets of SR drive systems remain uncharacterized because a high repeat content makes the Y chromosome genetically intractable. Nevertheless, Y-linked repeats such as satellite DNA, turnover rapidly (Wei et al. 2018). Being a target of drive may facilitate the rapid evolution of satellite DNA. *Rsp* copy number in *D. melanogaster*'s *SD* system correlates with drive sensitivity, where large copy number alleles are more sensitive to drive (Wu et al. 1988). In addition, resistant Y chromosomes are known in multiple SR drive systems (Stalker 1961; Unckless et al. 2015;

Montchamp-Moreau et al. 2001; Branco et al. 2013). These observations are consistent with a model where repeats are in a continuous struggle to escape or counteract drive (Figure 1.1c).

Intragenomic conflicts can also cause the rapid evolution of some gene families. The HP1 gene family is rapidly evolving, with recurrent gene gains and losses, mostly with testis-restricted expression (Levine et al. 2012; 2016). The clearest case is *HP1D2*, part of the Paris SR system (Cazemajor 2000). We suspect that the initial function of *HP1D2* was to regulate Y-linked chromatin (Figure 1.1d). Outside of the Paris SR system, conflict is implicated in the duplication of other HP1 proteins. *Oxpecker* also arose from a duplication of *HP1D/rhino*, and is involved in transposable element (TE) silencing (Levine et al. 2016). Another duplicated gene, *Umbrea* is an *HP1B* paralog (Levine et al. 2012) that became essential through neofunctionalization (Chen et al. 2010; Joppich et al. 2009). *Umbrea* localizes to the centromere and is involved in chromosome segregation, but in a species-specific manner, suggesting that there is co-evolution between centromeric DNA satellites and duplicated genes (Ross et al. 2014). These heterochromatin proteins share a common structure: a chromo domain, which mediates interactions with histones and a chromoshadow domain involved in protein-protein interactions. Heterochromatin proteins are central players in the centromere drive hypothesis proposed by Malik et Henikoff (2009). This model proposes that centromeres have the capacity to be selfish and bias their transmission through the female germline. Heterochromatin-binding proteins may evolve rapidly to mitigate this bias and restore parity in female meiosis (Lila et al. 2005; Fishman et Saunders 2008) (see box 1).

Genetic conflicts induced by meiotic drivers can have strong impacts on genome evolution. These conflicts can drive the evolution of gene families (Lewis et al. 2016), and leave signatures of selection that range from a genic to a chromosome scale. Examining these patterns as potential consequences of genetic conflict may lead to the identification of new cryptic drive systems.

Hybrid incompatibility

The meiotic drive theory of hybrid incompatibility (Frank 1991) posits that the observed bias of hybrid disruption towards the heterogametic sex, known as Haldane's rule, may result from the expression of divergent cryptic meiotic drivers that become unsuppressed in the hybrids. The arms race between drivers and suppressors may fuel the divergence between species and contribute to hybrid male sterility. This idea is the subject of active debate and has long suffered from a lack of empirical data (summarized in McDermott et Noor 2010).

The first direct link between incompatibilities and drive came from *D. pseudoobscura pseudoobscura* and *D. pseudoobscura bogotana*, two subspecies that diverged 155-230 Kya (Wang et al 1997). Hybrid males between *D. p. pseudoobscura* males and *D. p. bogotana* females are nearly sterile and produce progeny that are almost all daughters (Orr et Irving 2005). Both phenotypes are caused by a single X-linked testis expressed gene, *Overdrive*, which encodes a polypeptide with a MADF DNA-binding domain (Phadnis and Orr 2009). Interestingly another MADF domain-containing protein (HMR, for hybrid male rescue) is involved in a different hybrid incompatibility between *D. melanogaster* and sibling species (Barbash et al. 2003). In *D. p. bogotana*, *Overdrive* has autosomal suppressors not present in *D. p. pseudoobscura*, leading to de-repression of the driver in hybrids (Orr et Irving 2005). The QTL mapping of loci involved in sterility and segregation distortion revealed that both phenotypes share similar genetic basis (Phadnis 2011). Similarly overlapping QTLs for hybrid incompatibility and meiotic drive were found between *D. albomicans* and *D. nasuta* (Zhang et al. 2015) and *D. persimilis* and *D. pseudoobscura* (McDermott et Noor 2010).

In *D. subobscura*, the frequency of the SR chromosome is around 15-20 % in a North African populations but they are almost absent in a South European population (Jungen 1968; Hauschteck-Jungen 1990). The variation in SR frequency could be due to hybrid incompatibility (Hauschteck-Jungen 1990). This hypothesis was recently supported Verspoor et al. (2018) in an independent genetic background, suggesting that hybrid male incompatibility prevents the spread of SR between the North African population and the European population.

Cryptic drive systems are well studied in the *D. simulans* clade in the context of hybrid incompatibilities. Introgression of the *D. mauritiana Tmy* locus, an autosomal suppressor of the *D. simulans* Durham SR system, into a *D. simulans* background causes both meiotic drive and male sterility when homozygous (Tao et al. 2001). Meiklejohn et al. (2018) identified an unknown cryptic X-linked driver in *D. mauritiana* that induces sex ratio distortion in a *D. simulans* genetic background. However, they also detected a recent introgression of *D. simulans* cryptic drivers, *Dox* and *MDox* into *D. mauritiana*, causing a local reduction of interspecific divergence, which impedes the evolution of hybrid sterility (Meiklejohn et al. 2018). This case presents an alternative outcome of meiotic drive in the presence of gene flow for complex speciation events.

CONCLUSIONS: EMERGING THEMES IN MEIOTIC DRIVE MECHANISMS

When we compare the key players and phenotypes involved in male meiotic drive systems across *Drosophila*, we see common themes emerge, suggesting that drivers may target similar processes in spermatogenesis. Known drive phenotypes appear to be associated with heterochromatin formation, either by targeting heterochromatic sequences directly (e.g. *SD* in *D. melanogaster*) or by involving heterochromatin-binding proteins (e.g. Paris *SR* of *D. simulans*). The three drive mechanisms that we reviewed here – heterochromatin regulation, small RNA pathways, and nuclear transport – are interdependent (Andersen et al. 2017; F. Zhang et al. 2012). These complicated interactions make it difficult to disentangle the causes and consequences of meiotic drive. Considering how these pathways are connected may provide more insight into how meiotic drivers may have shaped the evolution of conserved germline features and pathways.

Germlines have defense mechanisms against selfish genetic elements. Most widely known are the RNA interference pathways that use small RNAs (e.g. endo-siRNAs and piRNAs) to target TEs. These small RNA pathways are well studied in the *D. melanogaster* female germline (Aravin et al. 2001) but poorly understood in males, where many small RNAs are not TE-derived. Cryptic drive systems in *Drosophila* species involve suppressors that generate small RNAs, for example the hpRNAs that generate endo-siRNAs in *D. simulans* (Lin et al. 2018; Tao et al. 2007b) and the piRNAs that suppress a cryptic X-linked driver in *D. melanogaster* (Aravin et al. 2001). It is possible that one common function of small RNA pathways in the male germline is to suppress meiotic drivers.

Small RNAs need to reach their target genetic elements for silencing, and proteins that make up or interact with the nuclear pore are important for piRNA production (Handler et al. 2013; Muerdter et al. 2013; Parikh et al. 2018). Nuclear pore complexes are the gatekeepers controlling what enters and exists the nucleus (Wente 2000). Processes that mediate the transport across the nuclear pore can end up at the center of conflicts between, for example, pathogens (reviewed in Le Sage et Mouland 2013), TEs (e.g. Rowley et al. (2018)), and meiotic drivers (Presgraves 2007; Presgraves et Stephan 2007). These conflicts may trigger the rapid evolution of nuclear pore complex proteins (Presgraves et Stephan 2007) that can cause hybrid incompatibilities between closely related species (Tang et Presgraves 2009). In this way, meiotic drive may have consequences for species divergence and speciation.

The evidence from across *Drosophila* drive systems connecting heterochromatin regulation, small RNAs, and nuclear transport pathways, suggests that selfish genetic elements may expose common vulnerabilities in spermatogenesis. While their mechanisms differ, male and female drive systems have interesting parallels. For example, gene duplication and heterochromatin-binding proteins also feature in plant female drive systems (see box). Studying molecular mechanisms of drive in both males and females may lend insights into some basic features of gametogenesis.

This review focused on the *Drosophila* genus, as most known male drive systems occur in fruit flies. However, this enrichment is likely to be, at least in part, due to ascertainment bias because of the rich history of *Drosophila* genetics research in the past century. Meiotic drivers have been discovered in

a wide range of organisms, suggesting that they may be pervasive, but cryptic, or go undetected without any obvious phenotypic effect. *Drosophila* are powerful models for studying drive systems and their mechanisms. Advances in long-read sequencing and genome editing technologies provide opportunities to extend these studies to new systems (Lewis et al. 2016; Wei et al. 2017).

Box 1: Female drive systems

The asymmetry of female meiosis presents an opportunity for conflicts, as only one of the four meiotic products becomes the egg. Centromeres can be selfish and gain a transmission advantage during female meiosis, biasing their segregation to the egg side of the spindle pole. There are parallels between male and female drive systems – they both seem to involve gene duplications, heterochromatin and heterochromatin binding proteins. Female drive in plants and animals fit into two categories:

1) True centromere drive where centromeres compete based on ‘strength’ (Fishman et Willis 2005; Iwata-Otsubo et al. 2017): Differences in satellite repeats in and near the centromeres can take advantage of a spindle asymmetry in female meiosis (Akeru et al. 2017) to achieve biased segregation (Fishman et Saunders 2008; Iwata-Otsubo et al. 2017; de Villena et Sapienza 2001).

2) Driving mutations outside the native centromeres: One of the best-studied cases of female drive is of large heterochromatic “knobs” consisting of tandem repeats on Maize chromosomes. On Abnormal chromosome 10, a non-recombining region at the distal tip of the chromosome contains a locus that converts its knobs into meiotic drivers that cheat by moving toward the spindle pole faster than their homologs (Rhoades 1942) resulting in their biased segregation (Buckler et al. 1999; Hiatt et Dawe 2003). The causal locus is a multicopy gene called *Kinesin driver* (*Kindr*) that localizes to the knobs and facilitates their accelerated movement (Dawe et al. 2018).

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Anna Lindholm, Nina Wedell and Tom Price for the invitation to contribute to this special issue and the two anonymous reviewers for helpful comments on the manuscript.

FUNDING

This work was supported by the National Institutes of Health (NIH R35-GM119515) and National Science Foundation (NSF MCB (Cazemajor et al. 2000)44693) to AML. AML is supported by a Stephen Biggar and Elisabeth Asaro fellowship in Data Science. CMM was supported by the Centre Nationale de la Recherche Scientifique (UMR 9191). CC is funded by a French ministerial scholarship.

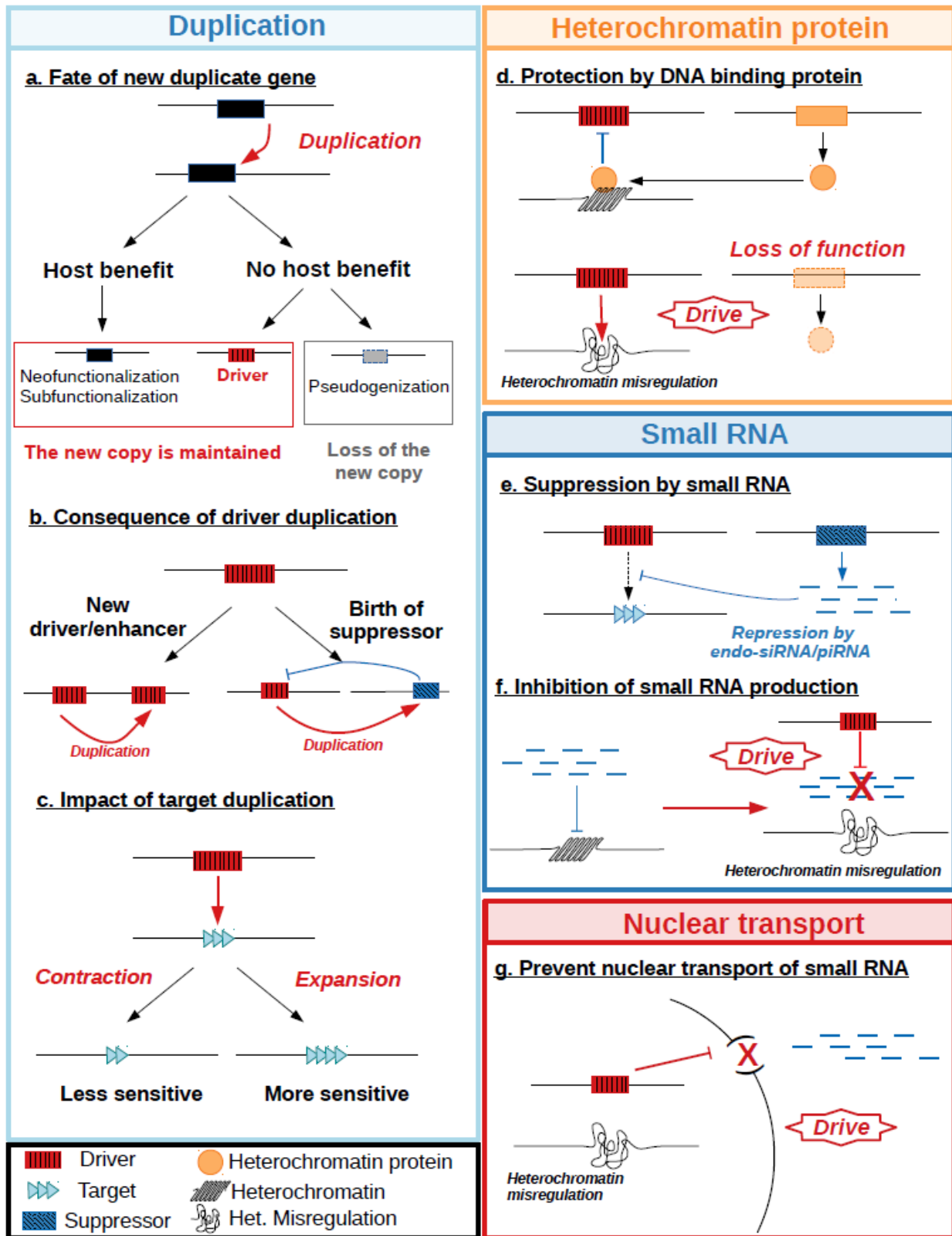


Figure 1.1: The schematics in the left panel show how duplication events can contribute to meiotic drive system evolution: a. A duplicated gene can give rise to the emergence of a new driver; b. Driver duplication could give rise to a new driver/enhancer or to a suppressor element; c. Repetitive targets can expand or contract, which could affect their sensitivity to the driver. The schematics in the right panel show the different mechanisms involved in drive: d. Heterochromatin binding proteins can protect the target from the driver. Small RNAs can be involved drive in multiple ways: e. they can be suppressors of drive; f. the misregulation of small RNAs can induce cause drive directly; or g. disrupted nuclear transport can prevent the proper processing or targeting of small RNAs.

| System/Species | Drive | Target | Suppression | Phenotype | Possible mechanisms | References |
|---------------------------|---|------------|---|---|---------------------|---|
| Melanogaster Group | | | | | | |
| <i>SD/D. melanogaster</i> | Duplication of <i>RanGAP</i> (2nd chromosome) | <i>Rsp</i> | X and 3rd linked suppression | Chromatin condensation, and sperm individualization | 1,2,3 | (Larracuente and Presgraves 2012) |
| <i>Paris/D. simulans</i> | <i>HP1D2</i> loss of function and a duplication | Y | Autosomal suppression and Y resistance | Meiosis defects | 1,2 | (Cazemajor et al. 2000; Helleu et al. 2016) |
| <i>Winter/D. simulans</i> | Duplication of <i>Mdox</i> | Y | Autosomal suppression (<i>Nmy</i>) and Y resistance | Chromatin condensation | 1,2 | (Tao et al 2007a, Lin et al. 2018) |
| <i>Durham/D.simulans</i> | Unknown | Y | Autosomal suppression (<i>Tmy</i>) | Unknown | 1 | (Lin et al. 2018) |
| Obscura Group | | | | | | |
| <i>D. obscura</i> | Unknown | Y | Unknown | Unknown | | (Gershenson 1928) |
| <i>D. pseudoobscura</i> | <i>Overdrive</i> | Y | Autosomal suppression | Unknown | | (Phadnis and Orr 2009) |
| <i>D. pseudoobscura</i> | ≥ 4 loci, Unknown | Y | no suppressor | Meiosis defects | | (Sturtevant and Dobzansky 1936; Novitsky et al. 1965) |
| <i>D. subobscura</i> | Unknown | Y | Autosomal suppression | Meiosis defects | | (E Hauschteck-Jungen, Jungen, et Müller 1972; Verspoor et al. 2018) |
| <i>D. athabasca</i> | Unknown | Y | Unknown | Meiosis defects | | (Novitsky et al. 1965) |
| <i>D. affinis</i> | Unknown | Y | Y resistance | Chromatin condensation, and sperm individualization | | (Unckless et al. 2015) and personal communication |
| <i>D. persimilis</i> | Unknown | Y | Unknown | Unknown | | (Sturtevant and Dobzansky 1936; Wu and Beckenbach 1983) |
| <i>D. azteca</i> | Unknown | Y | Unknown | Unknown | | (Sturtevant and Dobzansky 1936) |
| Testacea Group | | | | | | |
| <i>D. neotestacea</i> | <i>Importin-α2</i> (supposed) | Y | no suppressor | Sperm individualization | 3 | (James and Jaenike 1990, Pieper et al. 2018) |
| <i>D. testacea</i> | Unknown | Y | Autosomal suppression and/or Y resistance | Abnormal sperm cysts | | (Keais et al 2017) |
| Quinaria Group | | | | | | |
| <i>D. quinaria</i> | Unknown | Y | Autosomal suppression | Unknown | | (Jaenike 1996) |
| <i>D. recens</i> | Unknown | Y | no suppressor | Unknown | | (Jaenike 1996) |
| Melanica Group | | | | | | |
| <i>D. paramelanica</i> | (≥ 4 loci) Unknown | Y | Autosomal suppression and Y resistance | Meiosis defects | | (Stalker 1961) |
| Immigrans Group | | | | | | |
| <i>D. albomicans</i> | Unknown | Y | Autosomal suppression | Sperm individualization | | (Yang et al. 2004; Zhang et al. 2015) |
| Tripunctata Group | | | | | | |
| <i>D. mediopunctata</i> | Unknown | Y | Autosomal suppression and Y resistance | Unknown | | (Carvalho and Klaczko 1993) |

Table 1.1 : Summary of all known meiotic drive system in Drosophila.
 Mechanism involved in drive or drive suppression : 1. Small RNA pathway – 2. Heterochromatin formation – 3. Nuclear transport.

Chapitre 2

La suppression Autosomale

Chapitre 2 : La suppression Autosomale

Lors de la première partie de ma thèse je me suis concentrée sur l'étude du déterminisme génétique de la suppression autosomale.

Au sein du système Paris deux types de suppression ont évolué : des chromosomes Y résistants et des supresseurs autosomaux. Une étude précédente réalisée sur une population des Seychelles a permis d'identifier la présence d'éléments supresseurs sur les deux autosomes majeurs chez *Drosophila simulans*, le II et le III. Dans cette population la suppression est complète, cependant le nombre et la localisation de ces éléments restaient encore inconnus.

Afin d'aller plus loin dans l'étude des bases génétiques de la suppression dans cette population il a été décidé de réaliser une cartographie QTL. Pour cela, nous avons utilisé des lignées recombinantes issues de deux lignées parentales : la lignée ST8 (Tunisie) qui ne porte pas de supresseurs et la lignée SR (Seychelles) qui porte les supresseurs. Cette cartographie a permis de mettre en évidence le caractère complexe de la suppression autosomale : au moins 5 loci sont impliqués montrant de fortes interactions épistatiques.

J'ai commencé à travailler sur ce projet au cours de mon Master 2 et je l'ai finalisé au cours de ma première année de thèse. Cette étude fait l'objet d'un article scientifique publié en 2019 dans *Heredity*, dont je suis premier auteur.

Article 2

X-chromosome meiotic drive in *Drosophila simulans*: A QTL approach reveals the complex polygenic determinism of Paris drive suppression.

Authors.: Cécile Courret.*, Pierre R. Gérard*†, David Ogereau*, Matthieu Falque†, Laurence Moreau†, Catherine Montchamp-Moreau*

Authors Affiliations :

*Evolution Génome Comportement et Ecologie, CNRS, Université Paris-Sud, IRD, Université Paris-Saclay, 91190 Gif-sur-Yvette, France.

†Génétique Quantitative et Evolution-Le Moulon, INRA, CNRS, Université Paris-Sud, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91190 Gif-sur-Yvette, France.

Published in *Heredity* – June 2019 – Volume 122 – Issue 6 – Page 906-915

<https://doi.org/10.1038/s41437-018-0163-1>

Abstract:

Meiotic drivers are selfish genetic elements that promote their own transmission into the gametes, which results in intragenomic conflicts. In the Paris *sex-ratio* system of *Drosophila simulans*, drivers located on the X chromosome prevent the segregation of the heterochromatic Y chromosome during meiosis II, and hence the production of Y-bearing sperm. The resulting sex-ratio bias strongly impacts population dynamics and evolution. Natural selection, which tends to restore an equal sex ratio, favors the emergence of resistant Y chromosomes and autosomal suppressors. This is the case in the Paris *sex-ratio* system where the drivers became cryptic in most of the natural populations of *D. simulans*. Here, we used a Quantitative Trait Locus (QTL) mapping approach based on the analysis of 152 highly recombinant inbred lines (RILs) to investigate the genetic determinism of autosomal suppression. The RILs were derived from an advanced intercross between two parental lines, one showing complete autosomal suppression while the other one was sensitive to drive. The confrontation of RIL autosomes with a reference X_{SR} chromosome allowed us to identify two QTLs on chromosome 2 and three on chromosome 3, with strong epistatic interactions. Our findings highlight the multiplicity of actors involved in this intragenomic battle over the sex ratio.

Keys words : sex chromosome meiotic drive, drive suppression, *Drosophila simulans*, QTL mapping, RIL.

INTRODUCTION

According to Mendel's law of segregation, each member of a pair of alleles in heterozygous individuals has an equal probability of being transmitted into the gametes. Alleles conferring a fitness advantage to their carriers will then be favored by natural selection. This general rule, however, suffers numerous exceptions caused by selfish genetic elements that use a variety of ways to favor their own transmission at the expense of other parts of the genome and can spread even if detrimental for individual fitness. Among them, meiotic drivers pervert the process of meiosis or other steps of gametogenesis in such ways that they end up being over-represented among the functional gametes. Meiotic drive has been reported in a wide variety of organisms, including fungi, plants, insects and mammals (Burt et Trivers 2006; Lyttle 1991; Presgraves 2008).

Sex-Ratio (SR) drive is a particular type of meiotic drive where the drivers are X-linked and expressed in XY males. X chromosomes carrying SR drivers (X_{SR}) prevent the production of functional Y-bearing sperm, which results in strong bias towards females in the offspring of carrier males. Naturally occurring cases of SR drive have now been described in 15 *Drosophila* species belonging to 9 different species groups or subgroups (Jaenike 2001; Zhang et al. 2015; Keais et al. 2017). The genetic and histological data indicate that the trait evolved recurrently and independently, and suggest a diversity of underlying mechanisms (Jaenike 2001; Helleu et al. 2015). The ecological and evolutionary consequences of meiotic drive can be particularly far-reaching in the case of sex linked systems. Those can trigger extended intragenomic conflict and coevolutionary arms race between the sex chromosome carrying the drivers and the rest of the genome, with impact on genome evolution, mating system, sex determination, or speciation (Helleu et al. 2015).

Unless they are hampered by very deleterious pleiotropic effects of the driver on individual fitness, X_{SR} chromosomes can rapidly spread in populations and lead to unisexual population extinction (Hamilton 1967). However, natural selection tends to restore a balanced sex ratio and thereby favors alleles at unlinked loci when those counteract the effect of SR drivers through a negative frequency-dependent selective process (Fisher 1930). When facing an X_{SR} chromosome, a resistant Y chromosome, even when it is partly deleterious, has a direct and strong transmission advantage compared to sensitive Y chromosomes and can quickly reach fixation (Clark 1987; Unckless et al. 2015). Autosomal suppressors are favoured because the rarer sex is the one that better transmits its genes : they are then selected in response to the sex ratio bias in the population through Fisherian sex ratio selection. It was shown in the mathematical model developed by Vaz and Carvalho in 2004, that in contrast to the Y chromosome, the fixation of an autosomal suppressor can occur only if the X_{SR} is very deleterious. Such suppressor elements have been detected in many natural populations with an SR drive system. Indeed, partial autosomal suppression has evolved in *Drosophila mediopunctata* (Carvalho et Klaczko 1992), *Drosophila paramelanica* (Stalker 1961), *Drosophila quinaria* (Jaenike 1999) and probably in *Drosophila testacea* (Keais et al. 2017). In the worldwide species *D. simulans*, three SR systems have been reported; Paris, Winters and Durham (Meiklejohn et Tao 2010). Complete suppression has evolved in all three cases in *Drosophila simulans* (Cazemajor et al. 1997;

Tao et al. 2007b), thereby making the drivers cryptic in the wild. The situation in *D. simulans* supports the hypothesis that X-linked drivers are frequent in the wild, but usually "hidden" by suppressors (Hurst et Pomiankowski 1991).

With the exception of two systems in *D. simulans*, we still know very little about the molecular mechanism of SR drive and the nature of genes/DNA sequences involved in the conflict triggered by the drivers. The Winters SR system of *D. simulans* is the only case where both a SR driver and its autosomal suppressor have been identified. *Dox*, the driver, is a gene of unknown function, with a very limited coding capacity (Tao et al. 2007a). It was recently shown that the suppressor gene *Nmy*, which originated from *Dox* through a retrotransposition event, encodes hpRNA that repress the distorter (Lin et al. 2018). However, this putative simple model may not be representative of other SR systems. For instance, autosomal SR drive suppression in *D. mediopunctata* is multigenic, since each of the four major autosomes shows a suppressor effect (Carvalho et Klaczko 1992). Similarly, in *D. simulans*, the two major autosomes contribute to suppress Paris SR drive (Cazemajor et al. 1997).

The work presented here aims at further characterizing the genetic determinants of the Paris autosomal suppression, in order to better understand the evolutionary dynamics of this system where two epistatically acting X-linked driver loci cause the missegregation of the Y sister chromatids during meiosis II (Cazemajor et al. 2000). One of the drivers, has recently been identified as *HP1D2*, a young and fast evolving member of the Heterochromatin Protein 1 gene family (Helleu et al. 2016). The drive phenotype is caused by dysfunctional *HP1D2* alleles. *HP1D2* accumulates on the heterochromatic Y chromosome in spermatogoniae, strongly suggesting that it directly interacts with this chromosome to control the segregation of the sister chromatids. This makes the Paris system particularly exciting as it highlights the role of genes that regulate heterochromatin structure in genetic conflicts.

We explore the genetic determinants of autosomal suppression in the Paris system by developing a quantitative trait locus (QTL) analysis based on recombinant inbred lines (RILs). The RILs were derived from an advanced intercross between two parental lines, one being highly sensitive to Paris SR drive and the other showing complete autosomal suppression. This allowed us to identify 5 suppression QTLs, two on chromosome 2 and three on chromosome 3. The analysis brought to light strong epistatic interactions (i) between a major QTL on chromosome 3 and the two QTLs on chromosome 2, independently, and (ii) between two additional QTLs on chromosome 3. In addition, we observed that selection against allele(s) from the parental suppressive line, mainly on chromosome 2, occurred when building the RILs in a driver-free background. This suggests that some autosomal alleles inherited from the suppressive line showed deleterious fitness effects when the parental genomes came into contact.

MATERIALS AND METHODS:***Fly stocks.***

All stocks are kept on axenic medium (David 1962) at 18°C. The parental lines that have been used for the RIL production are ST8 and SR (Figure 2.1A). The other lines were used to test the suppression ability of those RILs (Figure 2.1B).

The *ST8* line is our reference standard line, free of driver and suppressor (Montchamp-Moreau et Cazemajor 2002).

The *ST8/C(1)RM,yw* line is derived from the reference standard line. In this line females carry the compound X chromosomes *C(1)RM,yw* while all other chromosomes come from the *ST8* line.

The *SR* line is the reference Paris *SR* line, which carries *X_{SR}* chromosomes and shows complete autosomal suppression (Cazemajor et al. 1997).

The *ST8;Cy;Delta/Ub* line carry sex chromosomes from the *ST8* line and chromosomes 2 and 3 with the dominant visible mutations *Cy* and *Ubx/Delta*, respectively (Montchamp-Moreau et Cazemajor 2002).

The *XSR6* line was used to reintroduce the driver in all RILs for assessing their suppression strength. In this line, the males carry the reference *X_{SR6}* chromosome from the *SR* line and the females carry the compound X *C(1)RM,yw*. The Y chromosome and the autosomes are from the *ST8* line (Fouvry et al. 2011).

RIL production.

In order to prevent any positive selection of suppressing alleles throughout the crossing procedure the initial cross for producing the RILs was performed between two driver-free inbred lines: females from the suppressor-free *ST8/C(1)RM,yw* line were mated with males carrying sex chromosomes from the standard *ST8* line and suppressing autosomes from the *SR* line.

The crossing scheme used to produce the RILs is described in Figure 2.1, it was conducted at 25°C. First, in order to generate recombination events, large mass crosses (around 2000-3000 flies at each generation) were performed during 6 generations. Then, 600 lines were started by mating pairs of F7 flies, and full-sib pair matings were carried out during at least 16 generations. The resulting RILs had the following genome: *X_{ST8}* (males) or a compound X chromosome (females), a standard Y chromosome (*Y_{ST8}*) and mosaic autosomes between the *ST8* (non suppressing) and *SR* (suppressing) lines.

Phenotyping (suppression ability).

The ability of the RIL autosomes to suppress the drive was measured after replacing the X_{ST8} chromosomes of males by the reference chromosome X_{SR6} . This was completed by using females carrying the $C(1)RM,yw$ X chromosomes (see the crossing scheme in Figure 2.1).

Then, for each RIL, males carrying X_{SR6} were individually mated, with standard $ST8$ females. Crosses were carried out at $25^{\circ}C$, flies were transferred into new vials 4 days later. Offspring were sexed until no more flies emerged and only crosses producing at least 50 offspring were taken into account. For each RIL the sex ratio was measured for 10 individual crosses at least.

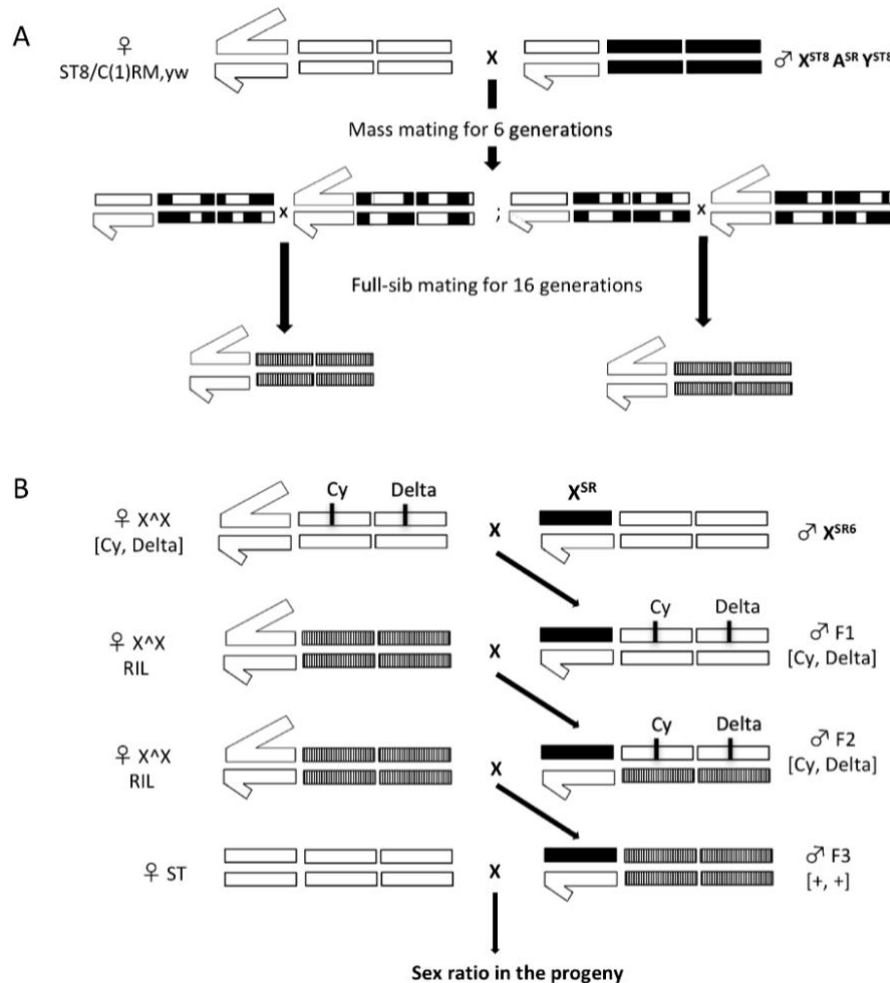


Figure 2.1: A. Crossing scheme used to generate the Recombinant Inbred Lines. Standard chromosomes are shown in white and SR chromosomes are shown in black. Compound X are indicated by two attached boxes. The Y chromosome is indicated by a box with a hook. Autosomes are indicated by «A» and a simple box. Recombinant autosomes are indicated by a striped box. Large mass crossing was performed during 6 generations, then 600 lines were started each with a pair of F6 flies. Finally sib-mating was performed for at least 16 generations. **B. Crossing scheme used to measure the suppression ability of each RIL.** Standard chromosomes are shown in white and SR chromosomes are shown in black. Compound X are indicated by two attached boxes. The Y chromosome is indicated by a box with a hook. Autosomes are indicated by «A» and a simple box. Recombinant autosomes are indicated by a striped box. The black bars represent the phenotypic markers Curly and Delta respectively on the second and third autosome. The suppression ability was determined by measuring the sex ratio in the progeny of F3 males.

DNA sequencing and genotyping.

DNA of parental lines was extracted from the whole body, using a classical extraction protocol with phenol-chloroform, and sequenced using Illumina Hiseq 2500 pair ends technology (<http://www.illumina.com/>). Read alignments were performed using GSNAP (Wu et Nacu 2010) and SAMtools (Li et al. 2009). SNPs were called with GATK (McKenna et al. 2010) and 17000 selected SNPs were tested in silico by the LGC Genomics company for their compatibility with the KASP™ technology. We estimated the genetic position of each SNP according to its physical position in the *Drosophila melanogaster* genome and the genetic map produced by (Attrill et al. 2016), taking into account the inversion on the third chromosome between *D. simulans* and *D. melanogaster* (Mahowald 1980). A final list of 384 SNPs was then established, which were evenly distributed along the genome according to their position on the genetic map.

Adult flies from every RIL were kept at -80°C until DNA extraction. DNA was extracted from the whole body of 15 flies per RIL using a classical protocol with isopropanol precipitation. 3 ug of genomic DNA were used for genotyping.

The RILs were genotyped by the LGC genomics company (<http://www.lgcgenomics.com/>) using the KASP™ technology (Semagn et al. 2014).

Genetic map construction.

The genetic map was built using the R/qtl package (Broman et al. 2003). First, genotype and phenotype data were imported in R/qtl using the *read.cross* function. The *cross* object was set as a 'RIL sibling' cross type. Since residual heterozygosity cannot be taken into account with RILs, heterozygous calls were considered as missing data. Using the *subset* function, 5 RILs with less than 200 genotyped SNPs were discarded. We tested each marker locus for Mendelian segregation of alleles with a Chi² test using the *geno.table* function, which allowed to identify 134 markers in distortion (*P*-value <10⁻¹⁵). The distribution of allele frequencies along the RIL chromosomes indicated a real segregation distortion rather than genotyping errors (see Figure 2.2). We chose to keep all markers for the analyses and use the *markerlrt* function, which takes account of the segregation distortions to estimate the recombination fractions between markers. Eventually 152 RILs and 373 markers were kept. The orders of local markers were checked with the *ripple* function, using a maximum likelihood method that compare the likelihoods of different orders. Finally, inter-marker distances on the genetic map were re-estimated with the Kosambi function using the *est.map* function. We obtained a map with a total length of 96.58 cM for chromosome 2 and 172 cM for chromosome 3. The value for chromosome 3 was slightly higher than the known size of this chromosome in *D. simulans* (True et al. 1996). This is expected in the context of highly recombinant inbred lines resulting from advanced intercrosses, which artificially increase the size of the genetic map. On the other hand, the segregation distortion on chromosome 2 lowers the recombination fraction and consequently the genetic distance between markers. We checked for the collinearity of our genetic map with the genome sequence, plotting physical *versus* genetic positions for each marker (Supplemental Figure 2.1).

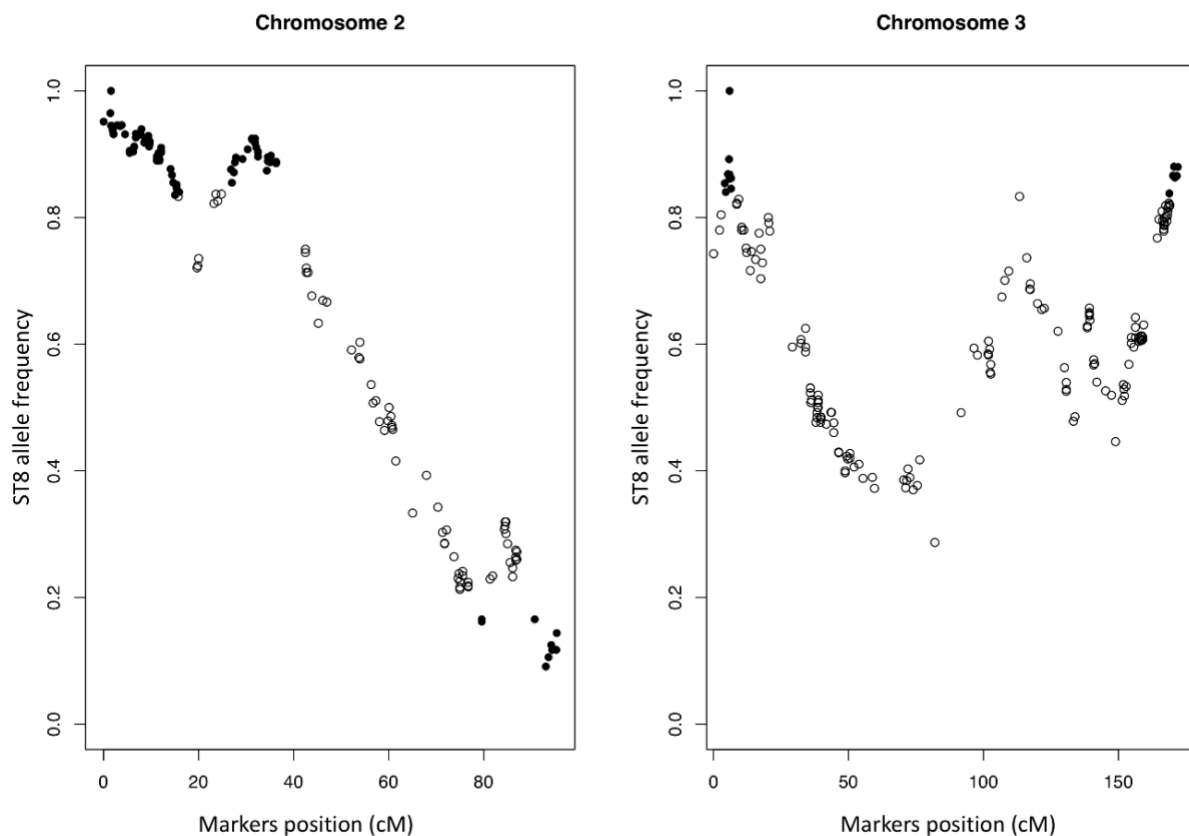


Figure 2.2: Frequency distribution of the ST8 SNP alleles along chromosomes 2 and 3 in the RIL population. Each circle represents one marker. Solid circles correspond to the markers that showed highly significant segregation bias (P -value $< 10^{-15}$). Markers are ordered along the X-axis according to their genetic position. The Y-axis indicates the frequency of the ST8 allele.

QTL mapping.

We used the *qqplot* and *qqnorm* R functions to test for normality of the sex-ratio phenotype distribution. The original phenotypic variable (female proportion) was transformed through a logit function, then we calculated the mean for each RIL line. The resulting transformed variables were used as phenotypes for QTL mapping.

QTL mapping was performed with the R/qtl package. First, a single QTL analysis was performed using the Haley-Knott regression method with the *scanone* function. Then, taking interacting loci into account, a two-QTL scan analysis was performed with the *scantwo* function, also using the Haley-Knott regression method. A permutation test with 1 000 replicates (Churchill et Doerge 1994) allowed to estimate the genome-wide LOD threshold corresponding to a 5% significance level. Finally, the identified QTLs were incorporated into the analysis using a Multiple QTL model. The model was first built with the *makeqtl* function that takes account of interactions, then tested with the *fitqtl* function using the Haley-Knott regression method. The *refineqtl* function was finally used to re-

estimate the position of the QTL by maximizing the LOD score. Once the model was fixed, the functions *addqtl*, *addint*, and *addpaire* were used to look for additional QTLs or interactions. To test for epistasis between QTLs, the model with epistatic interactions was compared to the additive model. We considered epistasis as significant when having a LOD difference >2 . The LOD score, the percentage of variance explained by the QTL, the number of individuals per genotypic class, the ANOVA Fisher's F value, the additive effect of each QTL and of each QTL*QTL interaction were computed through the *fitqtl* function. In order to assess the percentage of variance explained by each QTL individually and the interactions, we ran the analysis with different models with and without including the interactions.

For each QTL position, the *lodint* function was used to estimate 2-LOD confidence intervals. Markers localized at the ends of the intervals were identified using the *findmarker* function and their physical position was determined.

The representation of the phenotypic effect of each QTL was generated with the *effectplot* function.

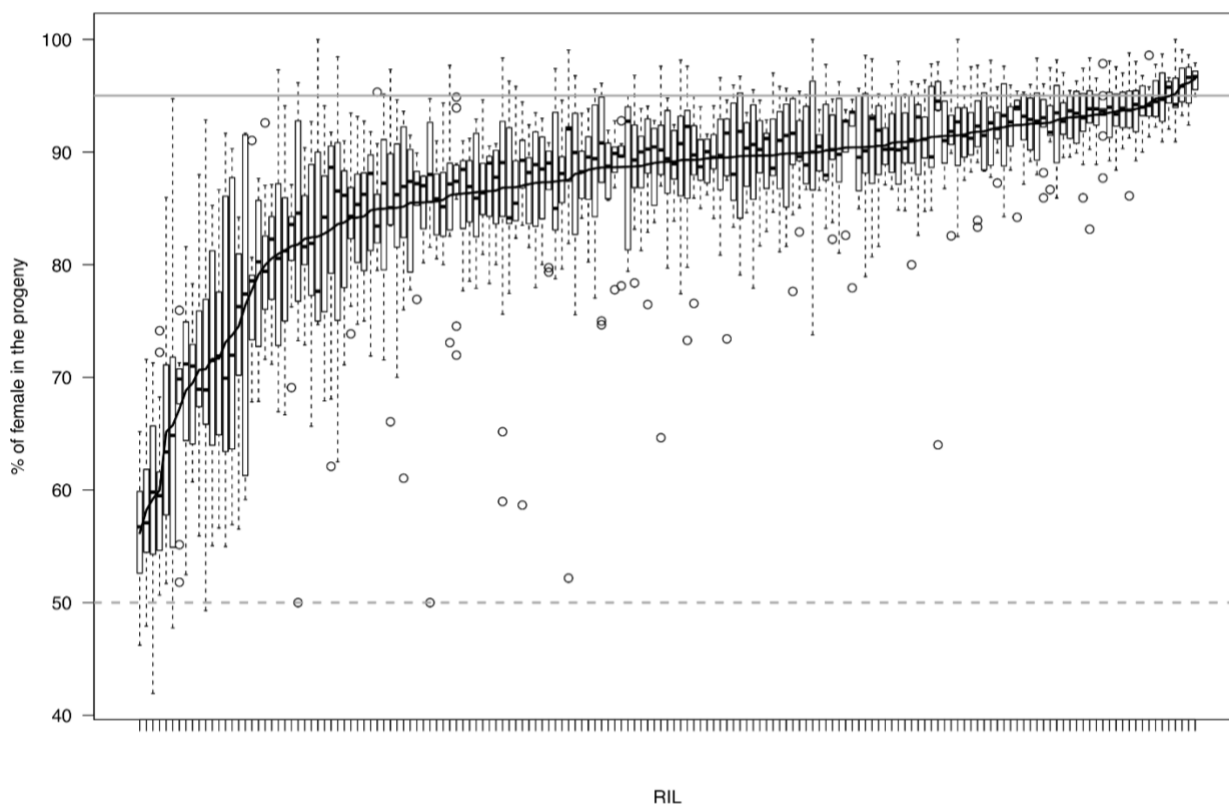


Figure 2.3: Variation of SR autosomal suppression among the RILs: Distribution of the percentage of females in the progeny of males carrying X_{SR6} and autosomes of each RILs. The 152 RILs are classified along the X axis in increasing order of the mean percentage of female in the progenies (black line). Each boxplot represents one RIL, the limits of the box correspond to the 10th and 90th percentiles, the median is indicated by a black bar. The dotted grey line marks the equal sex ratio (0,5) and the solid grey line the mean female percentage in the progeny of males carrying X_{SR6} in a suppressor-free background (0,95).

RESULTS

Segregation distortion during RIL production.

Among the 600 RILs started at the end of the recombination phase, only 152 survived the inbreeding phase during 16 generations. This indicates a low fitness of the lines, which was not unexpected. The 152 surviving RILs were genotyped and phenotyped for their suppression strength. Among them 132 (87%) show weak or no suppression ability (Figure 2.3), with more than 80% of females on average in the progeny. Indeed the mean female percentage distribution is centred around 90%. Only 6 RILs show a strong suppression phenotype (<66% females), suggesting that very few RILs inherited a full set of suppressors, as expected if suppression is determined by multiple locus and/or epistatic interactions.

However, the segregation of the parental alleles from the suppressing SR and non suppressing ST8 lines among the RILs is not random (Figure 2.2). Among the 373 autosomal SNPs examined, a subset of 134, of which 114 are on chromosome 2, shows a highly significant segregation bias (χ^2_1 , $pvalue < 1.9 \times 10^{-15}$). Many RILs are identical over a large portion of chromosome 2, with only one major recombination event. Most of the markers on the 2L arm show high frequencies of ST8 alleles (90%). In the same way, the ST8 alleles predominate in several region of chromosome 3. On the opposite, the markers in the distal part of the 2R arm show extremely low frequencies of ST8 alleles (around 10%). Such a distortion cannot be due to genotyping errors but rather suggests a counter-selection of deleterious alleles from the SR or ST autosomes, depending of the regions, and possibly negative epistasis between ST and SR alleles among loci on chromosome 2.

Drive suppression involves at least 5 loci and epistatic interactions.

First, the single QTL analysis by Haley-Knott regression detected a QTL on chromosome 2 (QTL1) and chromosome 3 (QTL2). Those QTLs are significant at a 5% threshold after 1000 permutations (threshold at 2.63) with a LOD score of 5.93 and 3.47, respectively.

In order to look for interacting QTLs, we performed a two-dimensional QTL analysis. We detected an additive interaction between QTL2 and an additional QTL on chromosome 3 (QTL3), with a LOD score of 6.71 (the threshold after permutation was at 3.98 for additive interaction). Furthermore, an epistatic interaction between QTL1 and 2 was detected with a LOD score of 11.27 (the threshold after permutation was at 5.64 for the epistatic interaction). Finally, using a multiple QTL approach, we tested a full model starting with the three QTLs and the epistatic interactions (Sex Ratio = $\mu + Q1 + Q2 + Q1*Q2 + Q3$). This model had a LOD score of 13,16 and explained 32,9% of total variance. When fitting this model, we found two additional QTLs (QTL4, LOD score 5.42 and QTL5, LOD score 5.51) on chromosome 3 and chromosome 2 respectively. QTL5 is in epistatic interaction with QTL3 with a LOD score of 4.09 and QTL4 is also in epistatic interaction with QTL2, with a LOD score of 4.94. The final model (Sex Ratio = $\mu + Q1 + Q2 + Q3 + Q4 + Q5 + Q1*Q2 + Q2*Q4 + Q3*Q5$) gives a LOD score of 24.18 and explains 51.93% of the sex-ratio phenotypic variance in the

RIL population (Figure 2.4). When testing the effect of each QTL alone without the interactions, we showed that QTL1 and QTL3 had a significant effect alone (Table 2.1). The effects of the 3 other QTLs were only due to their interactions with other loci (Table 2.1).

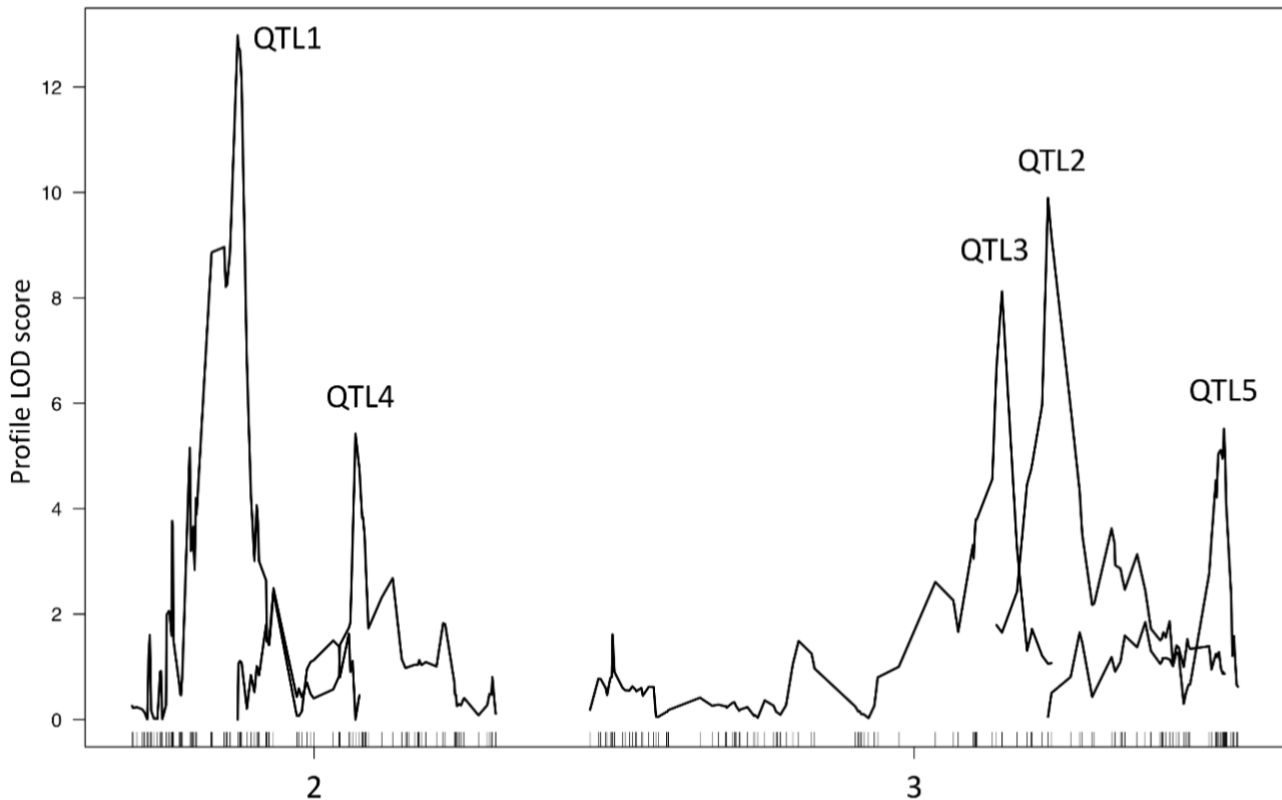


Figure 2.4: LOD profiles for the five-QTL model of suppression ability. The markers are plotted along the horizontal axis, according to their genetic position on each chromosome (cM). The corresponding LOD-scores come from the Haley-Knott regression analysis and include the interaction effect.

Unsurprisingly, all single QTLs show a decrease of the sex ratio bias associated with the suppressing SR allele (Figure 2.5A, Table 2.1). The suppression effect of the interactions between pairs of QTL, $Q1+Q2+Q1*Q2$ and $Q2+Q4+Q2*Q4$, is higher than expected from the additive effects of each single QTL, which is typical of positive epistasis (Figure 2.5B). On the opposite, the interaction between QTL3 and QTL5 ($Q3+Q5+Q3*Q5$) is negative compared to the single effect of QTL3 and QTL5 independently (Figure 2.5C). The QTL3 SR allele decreases the sex ratio bias in the absence of the QTL5 SR allele but has no effect in its presence, and reciprocally. This suggests antagonistic epistasis between those QTLs.

In order to determine the physical size of each region of interest, we computed the 2-LOD confidence interval of each QTL, using the physical position of markers flanking the interval (Table 2.1). The confidence intervals span from 0.83 Mb to 4.3 Mb depending on the QTL and contain between 125 and 567 genes, which hinders the identification of candidate genes at this stage.

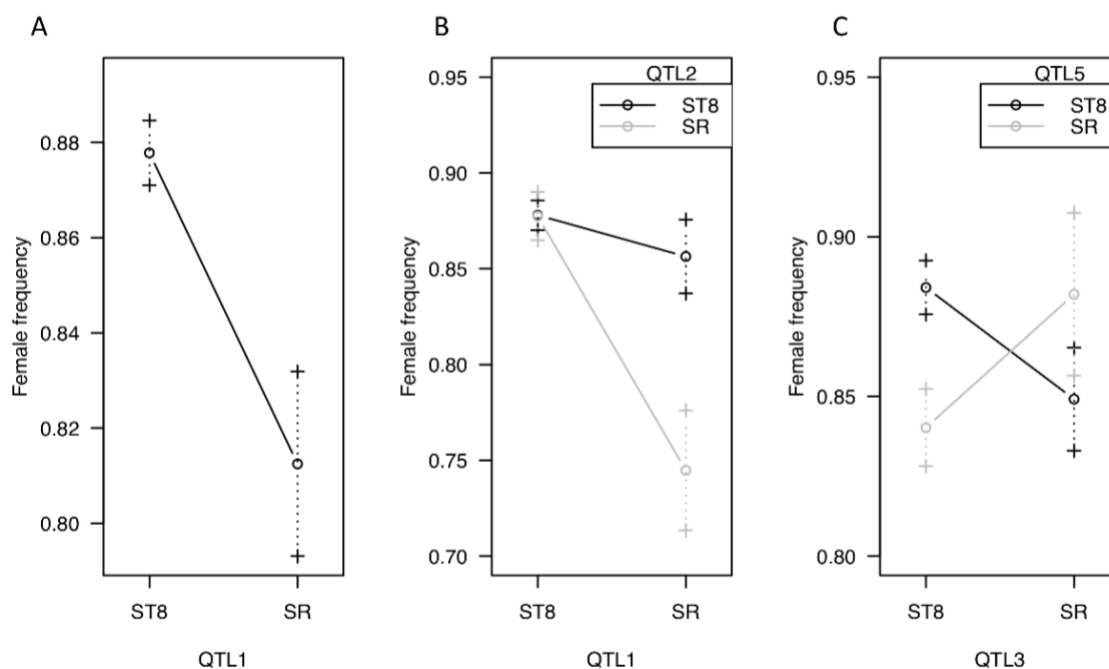


Figure 2.5: Sex ratio phenotype value for each QTL allele. Effect plot of the main QTL (QTL1) on chromosome 2 (A). Effect plot of the interaction QTL, QTL1*QTL2 (B) and QTL3*QTL5 (C). The Y-axis represent the phenotypic value (sex-ratio) after a transformation using logit function.

Table 1 Multiple QTL model for the suppression ability

| QTL | Chr | Physical interval | Genetic localization (cM) ^a | LOD | % var ^b | F-value (P-value) | Estimated effect ^c (SE) | Number of Ind. ^d | Number of genes |
|-------|-----|-----------------------------------|--|-------|--------------------|-------------------|------------------------------------|-----------------------------|-----------------|
| 1 | 2 | 2.8 Mb 2L: 16313310..19101804 | 25–29 | 7.206 | 17.286 | 35.62 (1.74e-08) | -0.41 (0.052) | 16 | 336 |
| 2 | 3 | 0.85 Mb 3R: 9884541..10738671 | 120–125 | 1.186 | 2.591 | 5.34 (0.022) | -0.25 (0.053) | 48 | 125 |
| 3 | 3 | 1.1 Mb 3R: 6028677..71280680 | 107–112 | 2.986 | 6.708 | 13.82 (2.86e-04) | -0.04 (0.052) | 37 | 132 |
| 4 | 2 | 1.14 Mb 2R: 11484071..12623014 | 57–61 | 0.144 | 0.31 | 0.64 (0.425) | -0.11 (0.036) | 70 | 149 |
| 5 | 3 | 4.3 Mb 3R: 20238565..24589803 | 165–170 | 0.8 | 1.74 | 3.58 (0.06) | -0.03 (0.047) | 27 | 567 |
| 1 * 2 | - | - | - | 4.413 | 6.875 | 20.45 (1.27e-05) | -0.24 (0.053) | 7 | - |
| 2 * 4 | - | - | - | 4.938 | 7.757 | 23.08 (3.88e-06) | -0.18 (0.038) | 27 | - |
| 3 * 5 | - | - | - | 4.092 | 6.344 | 18.88 (2.63e-05) | 0.21 (0.050) | 7 | - |

Table 2.1:

^a Genetics positions are given according to the genetic map constructed with *r-qt1*.

^b Percentage of phenotypic variance explained. The LOD score and % var for each single QTL were determined from a different model where interactions were eliminated, in order to test only the effect of a single QTL without the interaction effect.

^c Estimated effect of the suppressive allele (SR6) compared to the standard one (ST8) on the transformed phenotypic value.

^d Number of individuals with the SR allele at the corresponding QTLs.

DISCUSSION

Our genetic mapping experiment identified 5 QTLs involved in the autosomal suppression of Paris SR drive: two QTLs on chromosome 2 and three on chromosome 3, all showing epistatic interactions. Our results are consistent with those of a first genetic analysis performed by Cazemajor *et al.* (1997) on the same SR line, which had shown that both major autosomes had important suppressor effects at the homozygous state. In their experiment, homozygous loci on chromosomes 2 and 3 decreased the proportion of females in the offspring of males carrying the X_{SR} by 15% and 21%, respectively, compared to the heterozygous state, while an equal sex-ratio was restored by their combined effects. Here our model explains 51.93% of the phenotypic variation observed among the 152 RILs examined, but we cannot exclude that the percentage of variance explained is overestimated through a Beavis effect (Beavis 1994) due to the relatively small RIL sample size, or by segregation distortions in some chromosome regions. This overestimation is expected to be higher for QTL with an actual weak effect. The sample size of individuals contributing to assess the effect of the interactions between QTL1 and QTL2, and between QTL3 and QTL5 is low and we cannot rule out the hypothesis that these effects are overestimated. Nevertheless, since these effects are highly significant, we considered them in the model. The segregation distortion observed on chromosome 2 could have an impact on the estimated position of the QTL, but does not invalidate the presence of QTL 1 with such a strong effect on this chromosome.

The distribution of the sex ratio phenotypes among the RILs is strongly biased towards non-suppressing lines, with a few percent of the RILs showing nearly complete suppression (see Figure 2.3). Given our results, we can postulate that this is at least partly due to the non-additive basis of the quantitative model of suppression. Only lines carrying suppressing alleles at a sufficient number of loci, which potentiate each other through positive epistasis, can have an appreciable suppressor effect. On the other hand, our study has revealed suppressor loci that probably do not contribute to drive suppression in the SR line, such as QTL3 and QTL5, because of negative epistasis.

However, we cannot exclude that more loci are involved in suppression, for several reasons. First, loci in the SR line may have not been revealed by our analysis because they have a weak effect on the phenotype. In this case, only more lines could have helped detecting them. Second, genetic variation could have been lost during RIL production because of strong segregation distortion, especially towards ST8 alleles in the region containing the two main QTLs (QTL1 and QTL2). Suppressing alleles from the SR line could have been strongly counter-selected because they have deleterious fitness effects, either by themselves or by negatively interacting with ST8 alleles at other loci (that would also show segregation distortion, like on chromosome 2). Both sources of deleterious effects are obviously not necessarily mutually exclusive. On the one hand we intentionally produced the RILs in a driver-free context to avoid any positive selection of suppressors. While suppressor alleles have co-evolved with X_{SR} chromosomes in natural populations of *D. simulans*, it cannot be excluded that they impose a cost on individual fitness and are counter-selected in a driver-free background. This cost would not have been revealed previously in the lab because autosomal suppression has always been maintained along with an X_{SR}. On the other hand, the SR and ST8 lines

used here came from two different geographic areas, Seychelles and Tunisia, respectively. Genetic incompatibilities was shown to be common between different populations of the same species and can be a source of linkage disequilibrium in RIL genomes (Corbett-Detig et al. 2013; Colomé-Tatché et Johannes 2016). Furthermore, both parental lines have been maintained in the lab for several decades and became highly inbred, facilitating the evolution of allelic incompatibility. All of these phenomena may contribute to the biased distribution of phenotypes among the RILs. Finally, suppressor alleles may occur in *D. simulans* at other loci than those in the SR line. Autosomal suppressors are regular components of the Paris system in the wild, even in the presence of strong Y resistance, and have proven to be polymorphic within and between populations (Montchamp-Moreau et al. 2001; Atlan et al. 2004). Different suppressor alleles may have emerged independently in places remote from each other, and consequently we cannot generalize the results obtained here with the SR strain line derived from flies collected on a Seychelles island. However the suppressor alleles of the SR line proved to be efficient at the heterozygous state in combination with recessive autosomal suppressor alleles from populations samples as remote as Arabia, New Caledonia or West Indies (Atlan et al. 1997; Montchamp-Moreau et al. 2001). This strongly suggests that the autosomal suppression of Paris SR drive has a common genetic basis across the species range. In addition, suppressors are suspected to be redundant (Atlan et al. 2004). Redundancy means that there are more loci involved in the suppression than necessary to completely suppress drive. In that way, some of those suppressors could counteract each other, as this seems the case for QTL3 and QTL5.

Suppression in the Paris SR system of *D. simulans* proves here to be extremely complex with multiple loci and interactions involved, which is in sharp contrast with the monogenic suppression reported in this same species for the Winters SR system. In the latter case, the drive is caused by an additional copy of the *Dox* gene (Tao et al. 2007b), allowing a simple suppression mechanism through gene duplication and RNA interference (Tao et al. 2007a). In the same way, a driver-suppressor system recently identified in the yeast *Saccharomyces kambucha* illustrates the diversity of the underlying mechanisms. The particularity of this system is that the same gene, *wtf4*, acts both as a poison (driver) and an antidote (drive suppressor or resistance). Indeed *wtf4* produces two transcripts: a short one that encodes the poison in all gametes and a long one encoding the antidote that is only expressed in the gametes carrying *wtf4*. (Nuckolls et al. 2017). Drive in the Paris SR system, which involves dysfunctional alleles of the *HP1D2* gene (Helleu et al. 2016) in epistatic interaction with a component of a tandem duplication, may be much complicated to rescue. This could explain the evolution of multiple mechanisms of compensation involving different suppressor elements.

The multigenic nature of Paris SR drive suppression strikingly recalls the autosomal Segregation Distorter (SD) system of *D. melanogaster*. In this system two major loci acting as dominant suppressors were first detected in natural populations, (Hiraizumi et Thomas 1984; Trippa et Loverre 1975). However, (Lyttle 1979) reported the emergence of a polygenic and recessive suppression of SD in an experimental population. The suppressor alleles at multiple loci, each with a small effect on drive, may have pre-existed among the founders or rather have been generated by *de novo* mutations. *In fine*, those suppressors proved to be different from the ones from natural populations,

favouring the hypothesis that suppression can occur through a variety of ways and evolve rapidly even through a recessive polygenic basis. Even though the molecular mechanisms underlying SD drive remains unclear, several arguments are in favor of the regulation of heterochromatin via small RNA-mediated processes (Larracuente et Presgraves 2012). Is it coincidental that one of the Paris SR drivers, *HP1D2*, is a member of the heterochromatin protein 1 (HP1) gene family and originates from a duplication of *HP1D* (*Rhino*) that encodes a key factor in the piRNA cluster transcription (Zhang et al. 2014)? *HP1D2* specifically binds the heterochromatic Y chromosome in pre-meiotic male germ cells (Helleu et al. 2016). The driving alleles of *HP1D2* act epistatically with a component of a short segmental duplication (*DpsR*), yet to be identified. But strikingly, *DpsR* contains a truncated copy of *Trf2*, potentially encoding a short Trf2 isoform (Fouvry et al. 2011), which has recently been shown to be recruited to Rhino-decorated pi-RNA source loci in *D. melanogaster* (Andersen et al. 2017). The finding that the driver alleles of *HP1D2* are dysfunctional variants strongly suggests that Paris SR drive results from a disruption of heterochromatin regulation. We can reasonably think that the normal segregation of the Y chromosome is restored through compensating heterochromatin regulation factors. If autosomal suppressors are, like the driver itself, involved in heterochromatin regulation, then the multiplicity of genes contributing to this process could explain the polygenic nature of autosomal suppression.

Acknowledgments :

We thank Sylvie Nortier for the preparation of fly medium. We thank Rim Berdkan and Romuald Laso-Jadart for their help to handle flies during the experiment. We also thank Anne Génissel and Quentin Helleu for helpful discussions. This work was supported by the Agence Nationale de la Recherche (Grant ANR-12-BSV7-0014-01). PRG was funded by the ANR grant and CC is funded by a French ministerial PhD scholarship.

Conflict of interest:

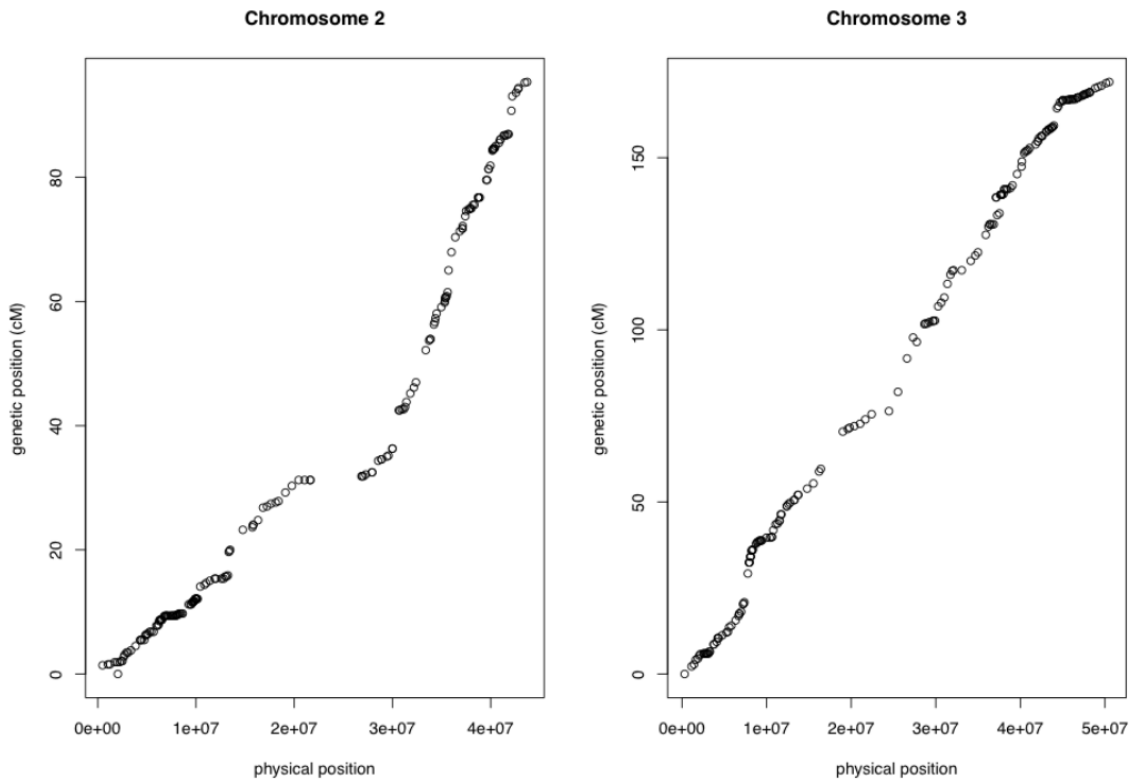
We certify that none of the material we present in this manuscript has been published or is in under consideration for publication elsewhere.

We declare no conflict of interest.

Data availability

File S1 contains phenotypic and genotypic data for all individuals. The QTL mapping script is provided in File S2, in R format. File S3 contains crossing scheme used to generate RIL and to measure the suppression ability.

Supplemental Figure:



Supplemental Figure 2.1 : Relationship between genetic and physical SNP positions along the autosomes. The physical position of each SNP is represented on the X-axis. The Y-axis indicates the genetic position determined after the genetic map built using R-qtL.

Chapitre 3

Les chromosomes Y résistants

Chapitre 3 : Les chromosomes Y résistants

Dans les populations naturelles de *Drosophila simulans* où le système Paris est présent on retrouve des chromosomes Y capables de résister à la distorsion.

Une première étude a été menée afin de suivre l'évolution du chromosome Y dans les populations naturelles de *Drosophila simulans* en lien avec le système Paris. Cette étude a révélé d'importantes variations phénotypiques de la résistance du chromosome Y, contrastant avec le très faible niveau de polymorphisme moléculaire. De plus, nous avons pu observer le remplacement de chromosomes Y sensibles par des chromosomes Y résistants en corrélation avec l'émergence du distorteur dans certaines populations.

Cette étude a fait l'objet d'un article scientifique, publié en 2019 dans *Molecular Biology and Evolution*, dont je suis deuxième auteur.

Afin d'aller plus loin dans la compréhension des bases génétiques de la résistance et de l'histoire évolutive du chromosome Y, j'ai entrepris de compléter cette étude par le séquençage complet de différents chromosomes Y résistants et sensibles. Cette étude a été rendue possible grâce à une collaboration avec l'équipe d'Amanda Larracunte, qui a réalisé un assemblage partiel du chromosome Y de *Drosophila simulans*.

L'étude des polymorphismes moléculaires (SNP) entre les différents chromosomes Y suggèrent que les chromosomes Y résistant ont un ancêtre commun récent en Afrique. Les chromosomes Y résistants n'auraient pas été sélectionné localement en réponse à l'émergence du distorteur, mais auraient migré avec lui. De même les chromosomes Y sensibles semblent également partager un ancêtre commun récent. Nous avons également pu confirmer l'ancestralité de la résistance. Enfin les polymorphismes nucléotidiques suggèrent que le chromosome Y résistant collecté aux Seychelles aurait évolué indépendamment des chromosomes Y résistant du continent Africain.

Cette étude est une nouvelle approche qui devrait nous permettre de mieux comprendre l'histoire évolutive du chromosome Y et du système Paris. Certains éléments demandent encore à être confirmé et nous souhaitons élargir l'étude à de nouvelles populations. Cette partie fait tout de même l'objet d'un manuscrit rédigé sous la forme d'un article scientifique encore non soumis.

Article 3

***Sex-Ratio meiotic drive shapes the evolution of the Y chromosome in
Drosophila simulans***

Authors : Helleu Q^{1,2}, Couret C¹, Ogereau D¹, Burnham KL^{1,3}, Chaminade N¹, Chakir M⁴, Aulard S^{1,5}, Montchamp-Moreau C^{1*}.

Affiliations :

¹ Évolution Génomes Comportement et Ecologie, CNRS, IRD, Univ. Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France.

² Present address: Department of Ecology and Evolution, University of Lausanne, Biophore Building, 1015 Lausanne, Switzerland.

³ Present address: Wellcome Centre for Human Genetics, University of Oxford, Oxford, OX3 7BN, United Kingdom.

⁴ Laboratoire Aliment, Environnement et Santé, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cadi Ayyad, BP 618, Marrakech, Morocco.

⁵ Sorbonne Université, Faculté des Sciences et Ingénierie, UFR des Sciences de la Vie, UPMC, F-75005 Paris, France.

Published in Molecular Biology and Evolution.**Abstract:**

The recent emergence and spread of X-linked segregation distorters – called “Paris” system – in the worldwide species *Drosophila simulans* has elicited the selection of drive-resistant Y chromosomes. Here, we investigate the evolutionary history of 386 Y chromosomes originating from 29 population samples collected over a period of twenty years, showing a wide continuum of phenotypes when tested against the Paris distorters, from high sensitivity to complete resistance (males sire ~ 95% to ~ 40% female progeny). Analyzing around 13 kb of Y-linked gene sequences in a representative subset of nine Y chromosomes, we identified only three polymorphic sites resulting in three haplotypes. Remarkably, one of the haplotypes is associated with resistance. This haplotype is fixed in all samples from Sub-Saharan Africa, the region of origin of the drivers. Exceptionally, with the spread of the drivers in Egypt and Morocco, we were able to record the replacement of the sensitive lineage by the resistant haplotype in real time, within only a few years. In addition, we performed *in situ* hybridization, using satellite DNA probes, on a subset of 21 Y chromosomes from six locations. In contrast to the low molecular polymorphism, this revealed extensive structural variation suggestive of rapid evolution, either neutral or adaptive. Moreover, our results show that intragenomic conflicts can drive astonishingly rapid replacement of Y chromosomes and suggest that the emergence of Paris segregation distorters in East Africa occurred less than half a century ago.

Keywords: sex chromosomes, meiotic drive, Y chromosome variation, *Drosophila simulans*, selective sweep, fluorescent *in situ* hybridization.

INTRODUCTION

The Y chromosome is a highly specialized component of male genomes. Despite the fact that this remarkable chromosome is usually critical for male fertility, it is commonly gene-poor and highly heterochromatic (Bachtrog 2013). This is the case in *Drosophila simulans* and *D. melanogaster*, two cosmopolitan and sister species of fruit flies (Carvalho et al. 2009). While their Y chromosomes represent about 20% of the haploid genome, they consist mainly of repetitive DNA sequences, including transposable elements and large blocks of satellite repeats, and harbor very few protein-coding genes (Carvalho et al. 2015). Those with known phenotypes are essential for spermatogenesis and male fertility (Carvalho et al. 2009). Compared to the X chromosome and the autosomes, the Y chromosomes of both species show very little nucleotide variation in gene regions. Kopp et al. (2006) found only four polymorphic sites in fragments of *kl-2* and *kl-3* genes in *D. simulans* (total of 1.2 kb explored) while Zurovcova et Eanes (1999) analyzing a 1.6 kb fragment of *kl-3*, in a worldwide collection of 10 lines of *D. simulans* and 11 lines of *D. melanogaster* found only a single silent polymorphism, in the former species. Similarly, in *D. melanogaster*, Larracuenta et Clark (2013) detected only 38 polymorphic sites in fragments of genes *kl-2*, *kl-3*, *kl-5* and *Ory*, totalizing 7.8 kb. By contrast, in both species, the Y chromosomes are characterized by extensive copy number and structural variation of satellite sequences and transposable elements and even Y-linked genes (Lyckegaard et Clark 1989; Balakireva et al. 1992; Aldrich et Maggert 2014; Tobler et al. 2017; Brashear et al. 2018). Even though gene variation is extremely reduced, the Y chromosome of both species contributes to the natural variation of a variety of traits, including temperature sensitivity (Rohmer et al. 2004), behaviors (Huttunen et Aspi 2003), and male fitness (Chippindale et Rice 2001; Archer et al. 2017). Consistently, it was found to cause extensive variation in gene expression and epigenetic modifications across the whole genome, which is ascribed to repeated sequences (Lemos et al. 2008; Lemos et al. 2010; Zhou et al. 2012; Branco et al. 2013; Wang et al. 2018; Lin et al. 2018). Several mechanisms could contribute to lower the level of gene variation on the Y chromosome compared to the other chromosomes. Indeed, due to its male-limited transmission and its hemizygous state, the effective population size of the Y chromosome is one quarter that of autosomes, and can also be lowered by sex-specific variation in selective effects (Charlesworth et Dempsey 2001). For the same reasons, the fitness conditions that allow the maintenance of stable, non-neutral Y chromosome polymorphism are very restrictive (Clark 1987; 1990), and the fixation rate of Y chromosome variants for a given level of selection can be much higher than for autosomes (Charlesworth et al. 1987). In addition, when fully differentiated as it is the case in *D. simulans* and *D. melanogaster*, the Y chromosome does not recombine with the X chromosome. Therefore, negative or positive selection operating at a given non-recombining site is expected to eliminate neutral variation by hitchhiking at the whole chromosome scale (Smith et Haigh 1974; Gordo et al. 2002).

The evolution of X-linked segregation distorters can create a context in which selective pressures operate on the Y chromosome at an exceptional scale. These selfish genetic elements, usually called *Sex-Ratio* (SR) distorters, cause sex ratio bias toward females in the progeny of carrying males by

preventing the production of Y-bearing sperm, which can impose a cost on fitness (Jaenike 2001; Helleu et al. 2015; Angelard et al. 2008). When spreading across populations, SR distorters generate an intragenomic conflict, with strong selective pressures in favor of Y-linked and autosomal suppressors for the restoration of an equal sex ratio (Fisher 1930; Hamilton 1967; Jaenike 1999). SR distorters have been reported in a variety of organisms — including plants, mammals, and insects among which are several *Drosophila* species — in which they have often led to the evolution of suppressors (Jaenike 2001). *D. simulans* is typical in this respect: this worldwide species of Afrotropical origin was found to harbor three SR systems — Durham, Paris and Winters (Tao et al. 2001; Montchamp-Moreau et al. 2006; Tao et al. 2007b; Tao et al. 2007a) — and in all three cases complete drive suppression has evolved, making the distorters cryptic in the wild (Atlan et al. 1997; Tao et al. 2001; Tao et al. 2007a; Tao et al. 2007b). Drive resistant Y-linked alleles are expected to sweep to fixation quickly, provided they show low or no fitness cost (Clark 1987; Hall 2004). However, substantial variation for Y-linked suppression of SR drive has been found in several *Drosophila* species: *D. paramelanica* (Stalker 1961), *D. mediopunctata* (Carvalho et al. 1997), *D. quinaria* (Jaenike 1999), and also *D. simulans*, in which the Y chromosomes show between- and within- population variation for their ability to suppress Paris and Winters SR drive, with a continuum of phenotypes from sensitivity to complete resistance (Montchamp-Moreau et al. 2001; Branco et al. 2013). These observations support the hypothesis that such a polymorphism can be stabilized easily in the wild. In fact, when both drive and drive suppression are deleterious, *Sex-Ratio* is a case where interactions in the population dynamics of X (driving vs. non-driving) and Y (suppressor vs. non-suppressor) alleles can stabilize Y polymorphism or lead to cyclic dynamics (Carvalho et al. 1997; Hall 2004).

The present study focuses on the evolution of *D. simulans* Y chromosomes, influenced by the spread of Paris X-linked distorters that gain a transmission advantage by causing Y chromatids missegregation during meiosis II (Cazemajor et al. 2000). Paris drive is caused by two X-linked elements, acting together (Montchamp-Moreau et al. 2006). The first one corresponds to a segmental duplication (*Dpsr*) that is likely less than 500 years old (Fouvry et al. 2011), the second one has been identified as the *HP1D2* gene, a young and fast-evolving member of the Heterochromatin Protein 1 gene family. HP1D2 accumulates on the heterochromatic Y chromosome in male germ cells, strongly suggesting that it controls the segregation of sister chromatids through heterochromatin modifications (Helleu et al. 2016). By the end of the 20th century, the frequencies of Paris drivers and suppressors were highly variable across the world: high frequencies of driver X chromosomes (hereafter X_{SR}, for *Sex-Ratio*) and complete drive suppression, involving Y-linked and autosomal components, were observed in East Africa and on islands of the Indian Ocean, while X_{SR} were usually rare or absent and suppression low or undetected elsewhere (Atlan et al. 1997). Since then, X_{SR} chromosomes tend to decline in the former area, where they are thought to originate, while they are invading the Middle East along with the suppressors (Bastide et al. 2011; 2013). All of the components of the Paris system were proven to be highly polymorphic, within and between populations: X_{SR} chromosomes show variation in drive strength (Montchamp-Moreau et al. 2002), autosomes and Y chromosomes varies in their suppression ability (Atlan et al. 2003; Montchamp-Moreau et al. 2001). In addition,

the autosomal suppression is multigenic and shows complex epistatic interactions (Courret et al. 2019).

Here, we further investigate the evolution of the Y chromosome of *D. simulans* in the context of the spread of Paris SR distorters. We first looked for DNA sequence variation at gene fragments spanning a total of 12.9 kb, among nine Y chromosomes representative of the range of sensitivity to Paris drive. We observed only three Single-Nucleotide Polymorphisms (SNPs), defining three haplotypes, which confirms the very low level of variation reported for Y-linked genes in this species (Zurovcova et Eanes 1999; Kopp et al. 2006). We then investigated, both those haplotypes and the drive resistance among 146 other Y chromosomes from 21 locations, collected from 1996 to 2018 in Western Europe, Middle East, Africa and tropical America. We found that all of the drive resistant Y chromosomes belong to the same lineage (CAA haplotype). This lineage appeared fixed in Sub-Saharan Africa, while some polymorphism was found in the other areas. The molecular screening of 233 additional Y chromosomes confirmed this general pattern. We also took advantage of recurrent sampling in North Africa to conduct a temporal survey. It revealed a swift replacement of sensitive Y chromosome (carrying the TTA haplotype) by resistant ones carrying the CAA haplotype, accompanying the spread of X_{SR} Chromosomes in Egypt and Morocco. Finally, we leveraged the repetitive nature of the Y chromosome to study its structural variations, using fluorescent *in situ* hybridization of three satellite DNA sequences and a ribosomal DNA intergenic spacer (IGS repeats). We observed many structural variations among the Y chromosomes of the CAA lineage, which suggests a very high rate of quantitative and qualitative changes among repeated sequences.

Taken together the data provide definitive evidence that X-chromosome drive can be a powerful force in Y chromosome evolution and reinforce the hypothesis that, in *D. simulans*, structural variation play a key role in Y-linked drive resistance.

MATERIALS AND METHODS

Fly stocks and extraction of Y chromosomes

ST8 is the reference standard stock in the Paris SR system, it derives from flies collected in Tunisia (1983), it harbors neither drive factors nor drive suppressor and carries the sensitive reference chromosome Y_{ST8} (Montchamp-Moreau et al. 2001). SR is the reference *Sex-Ratio* stock, which derives from flies collected in 1981 in Seychelles (see Cazemajor et al. 1997). ST8/ $C(1)RM, y w$ is a line with females carrying the $C(1)RM, y w$ compound X chromosomes. The other chromosomes come from the ST8 line (Montchamp-Moreau et al. 2001).

All of the Y chromosomes studied here come from isofemale lines (started with a single female collected in the wild). The sites and year of collection of the founder females are shown in Table 3.1.1. A single Y chromosome was extracted from each isofemale line and put into the ST8 standard background by applying the crossing scheme described in Montchamp-Moreau et al. (2001).

X chromosomes from natural populations (X_{pop}) are tested for SR according to the procedure described in Montchamp-Moreau et al. (2002): the crossing scheme produces males carrying the X_{pop} together with the suppressor-free autosomes and the drive-sensitive Y chromosome from the standard stock (ST8). For each X_{pop} , those males are individually mated with ST8 females. The mean sex ratio is calculated over at least five individual progenies consisting of at least 50 flies. Driving X chromosomes (X_{SR}) are defined according to their driving ability, *i.e.* more than 70% of females on average in the progeny of carrying males.

D. sechellia and *D. mauritiana* lines used in this study were described in Legrand et al. (2011a) and Legrand et al. (2011b).

Assaying Y-linked resistance to drive

The crossing procedure is detailed in Montchamp-Moreau et al. (2001). Briefly, males carrying the Y chromosome to be tested in the ST8 background were mated with $C(1)RM, y w$ females. Crosses between F1 females (which received the Y chromosome) and males carrying the reference *Sex-Ratio* X chromosome produced F2 males with the Y chromosome under study, the *Sex-Ratio* X chromosome, and the standard ST8 autosomal background that is devoid of suppressors (the dot fourth chromosomes were not controlled). We measured the mean proportion of females among the individual progeny of at least five F2 males. Only individual progenies consisting of at least 50 flies were taken into account.

Y-linked genes molecular study

DNA extraction was executed on a single male for each line either with the NucleoSpin Tissue kit (Macherey-Nagel) or using a lab-made single-fly squish buffer (Gloor et Engles 1992). We amplified

13 fragments from eight different Y-linked genes (see detailed information in Table S1). DNA was amplified using DreamTaq Master Mix, Phire Hot Start II (Thermo Fisher Scientific), or GoTaq DNA Polymerase (Promega), following the provider recommendations. PCR products were purified using Illustra ExoProStar (GE healthcare life science) and then sequenced. Chromatograms were analysed on Geneious version 7 (developed by BioMatters, Kearse et al. 2012), and then aligned with MAFFT (Kato 2002) and Geneious Alignment in Geneious version 7.

The sequences of *D. sechellia* and *D. mauritiana*, for the three polymorphic markers in genes *kl-2*, *kl-3* and *kl-5* were obtained as described above. In addition sequences were collected on NCBI for *D. sechellia* (GenBank: AJ874808.1, AJ874871.1 and PopSet: 614712397, for the three markers, respectively) and for *D. melanogaster* (only for genes *kl-3* and *kl-5*, NCBI gene IDs: 26067053, 26067054).

For *D. simulans*, we measured the nucleotide diversity (π) on 155 nucleotide sequences (Table S3) with 1720 positions in the final dataset (Nei et Li 1979). The analysis was conducted on MEGA X (Kumar et al. 2018).

| Continental Regions | Country | Location | Lines Collected in | X^{SR} Frequency ^a | Number of Y Chromosomes Characterized | | |
|---------------------|-------------|------------------|--------------------|---------------------------------|---------------------------------------|---------------|------|
| | | | | | Suppression strength | Gene sequence | Both |
| EA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | 0.35 ^b | 24 ^b | 12 | 12 |
| | La Réunion | Bellepierre | 1996 | 0.46 ^b | 14 ^b | 6 | 6 |
| | Zimbabwe | Harare | 1997 | 0.04 ^b | 20 ^b | 20 | 9 |
| | Kenya | Nairobi | 2001 | 0.04 ^c | ND | 12 | |
| | Uganda | Kibale | 2003 | 0.07 ^d | 4 | 4 | 4 |
| | Mozambique | Chimoio | 2007 | 0.54 ^d | 4 | 4 | 4 |
| | Madagascar | Antananarivo | 2000 | 0.57 ^d | 4 | 7 | 4 |
| | Madagascar | Andasibe | 2008 | 0.15 ^d | 3 | 3 | 3 |
| | Mayotte | Mont Combani | 2009 | 0.09 ^c | 16 | 16 | 16 |
| | WA | Cameroon | Yaoundé | 1997 | 0.05 ^e | 4 | 4 |
| São Tome | | Bon Successo | 1999 | 0.29 ^e | 6 | 7 | 6 |
| Cameroon | | Oku | 2016 | ND | ND | 6 | |
| M-E | Israel | Eilat | 2000 | 0.03 ^e | 6 | 6 | 6 |
| EU | Italy | Sticiano | 1996 | 0.16 ^b | 22 ^b | 11 | 11 |
| | France | Trouville | 1997 | 0.00 ^b | 14 ^b | 9 | 9 |
| | France | Gotheron | 2009 | 0.15 | 15 | 15 | 15 |
| N-A | Tunisia | Nasrallah | 1999 | 0.00 ^e | 6 | 6 | 6 |
| | Egypt | Alexandria | 2007 | 0.06 ^d | 5 | 15 | 5 |
| | Egypt | Alexandria | 2012 | 0.62 ^d | 5 | 16 | 5 |
| | Morocco | Marrakech | 2001 | 0.00 ^b | 4 | 6 | 4 |
| | Morocco | Marrakech | 2010 | ND | ND | 18 | |
| | Morocco | Marrakech | 2012 | 0.08 | 4 | 20 | 4 |
| | Morocco | Marrakech | 2016 | 0.17 | 9 | 16 | 9 |
| | Morocco | Marrakech | 2017 | 0.11 | ND | 48 | |
| Am | West Indies | Saint Martin | 1995 | 0.23 ^b | 13 ^b | 5 | 5 |
| | Brazil | Rio | 1999 | 0.09 ^e | 6 | 7 | 6 |
| | Mexico | Tuxtla Gutierrez | 2002 | ND | ND | 9 | |
| | USA | Athens | 2002 | ND | ND | 4 | |
| | | | | | | 386 | 153 |

Table 3.1.1: Origin of the Y chromosomes used in the analysis.

Note – When no ref. the chromosomes are characterized in this study.

^a $X_{SR} > 70\% > 70\%$ female in progeny (test procedure described in Jutier et al. 2004).

^b Montchamp-Moreau et al. (2001)

^c Bastide et al. (2011)

^d Bastide et al. (2013)

^e Jutier et al. (2004)

Chromosome preparation

Cephalic ganglia of male last-instar larvae were dissected in Ringer, placed in colchicine (0.01mM in Ringer) for 25 minutes, and then transferred into 0.5% sodium citrate for 10 minutes. The tissue was fixed in 1:1 4% paraformaldehyde in 1x PBS/glacial acetic acid for 4 minutes and was firmly squashed between slide and coverslip. The slide was plunged into liquid nitrogen for 20 seconds and the coverslip was rapidly removed. The slide was dipped and gently shaken in 100% ethanol for 10 minutes, and air-dried. Slides are kept at 4°C for at least three days before use.

Probes for fluorescent *in situ* hybridization

Four probes were ordered from Eurogentec: three satellite sequences (AAGAG)₆, (AATAG)₆, (AATAAAC)₄, and a fragment of 32 nucleotides (CCATTATAGTTAGAGGGTATA GTAGTGTAAC) from the ribosomal DNA intergenic spacer repeats (hereafter IGS) sequence, according to the *D. simulans* sequence published in Lohe et Roberts (1990). The probes were modified at the 5' terminus with a fluorescent marker that allows direct detection. In order to perform double fluorescence *in situ* hybridization, the (AATAAAC)₄ and IGS probes were labeled with rhodamine, while the two other probes were labeled with fluorescein.

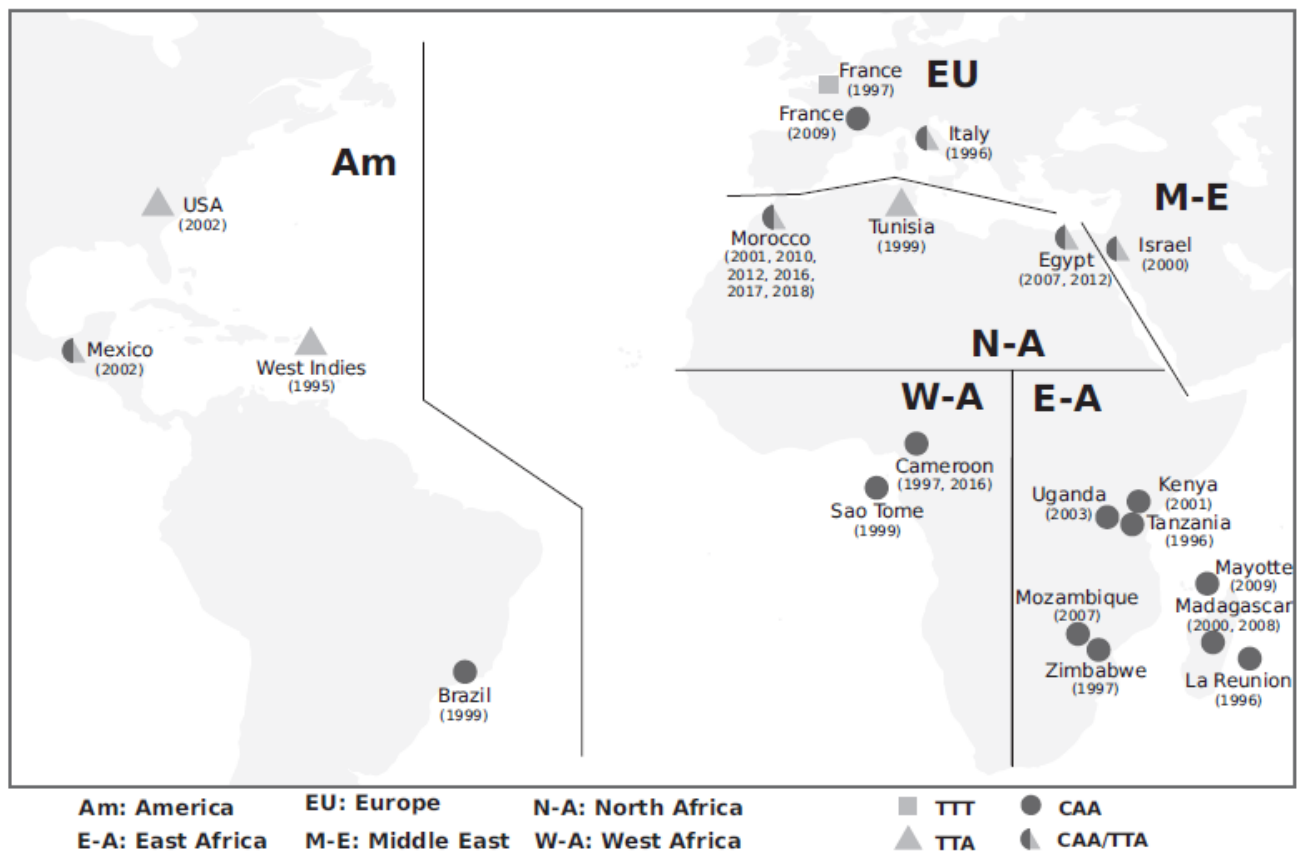


Figure 3.1.1: Locations of origin of the Y chromosomes, with the name of the country, the years of sampling and the haplotypes corresponding to each population sample

Fluorescent in situ hybridization on mitotic chromosomes

The protocol was adapted from (Dernburg 2000). Each probe was diluted into a 55.55% formamide, 11.11% (w/v) dextran sulphate, 3.33% SSC hybridization buffer and mixed on the slide. A coverslip was deposited onto the center of the tissue. Probes and chromosomes were denatured simultaneously by heating the slide on a hotplate at 93°C for 5 minutes. The coverslip was sealed with rubber cement and the slide was placed in a humid, lightproof chamber at 30°C overnight. After hybridization, the coverslip was removed and the slide was washed three times for 10 minutes with 0.1xSSC. Then the slide was air dried for a few minutes and chromosomes were counterstained with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) and mounted with VectaShield medium.

The slides were observed under a Zeiss Axioplan 2 epifluorescence microscope equipped with a cooled CCD camera (Princeton Instruments, Evry, France) and the appropriate set of filters. The fluorescent signals were recorded separately as gray-scale digital images, pseudo colored and merged using the Meta Series Software 7.7.4 from Molecular Devices (Pennsylvania, USA). Adobe Photoshop CS4 (version 11.0) was used to optimize the contrast and color levels in the images. On each slide three to four larval brains were deposited and five to ten Y chromosomes were studied. For each pair of probes 2 to 5 slides were analyzed per line.

RESULTS

Low Y-linked sequence polymorphism and its relation with the Paris system

Sequence variation was first surveyed among a subset of nine Y chromosomes from various locations and resistance strengths: Y_{SR} (Seychelles, 1981), Y_{ST8} (Tunisia, 1983), Y_{T16}, Y_{T21} and Y_{T61} (Tanzania 1996), Y_{Z6-13} (Zimbabwe, 1996), Y_{Rf40} (Mayotte, 2009), Y_{N16} and Y_{Gth14} (France, 1997, 2009). We examined 17 fragments (total length around 13 kb), in introns of Y-linked genes: *ORY*, *ARY*, *Pp1-Y2*, *PRY*, *CCY*, *kl-2*, *kl-3* and *kl-5* (Table S1). Four fragments (in *Ppr-Y*, *Pp1-Y2* and *kl-2*, total length 3 214 bp) proved to lie within duplicated regions and were unusable. We found only three single nucleotide polymorphisms, in *kl-2*, *kl-3* and *kl-5* genes respectively, defining three haplotypes: TTA, TTT and CAA (Table S1, Figure S1).

Using the three informative markers we extended the genotyping to 379 other Y chromosomes from 23 locations collected between 1995 and 2018, mainly in Africa, and also in Europe and America (Table 3.1.1, Figure 3.1.1). No additional variation was detected. Whatever the collection date, all of the Y chromosomes from Sub-Saharan Africa (E-A and W-A) carried the CAA haplotype, while both the CAA and the TTA haplotypes were observed among the Y chromosomes from the other areas (America, North Africa, Middle East and Europe, Figure 3.1.1). The TTT haplotype was uniquely found in the French sample collected in Normandy (1997). The three markers were examined in the two sister species of the *D. simulans* clade: *D. sechellia* and *D. mauritiana*. Both showed C, A, and A, respectively, at the three sites that are polymorphic in *D. simulans*. In *D. melanogaster*, we did not manage to amplify the marker in *kl-2*. According to the sequences available on NCBI for this latter species both the markers in *kl-3* and *kl-5* carry a A at the positions that are polymorphic in *D. simulans*. Thus, we conclude that CAA corresponds to the ancestral state while both TTA and TTT are unique to *D. simulans* (Figure S2).

| Location | Year | X^{SRa} | | Y Chromosome Haplotype | |
|--------------|------|---------------------------|----------------------------|------------------------|-----|
| | | $n X^{SR}$ (total $n X$) | freq. X^{SR} (reference) | TTA | CAA |
| Egypt | 2007 | 3 (49) | 0.06 (Bastide et al. 2013) | 15 | 0 |
| (Alexandria) | 2012 | 38 (61) | 0.62 (Bastide et al. 2013) | 0 | 16 |
| Morocco | 2001 | 0 (40) | 0.00 (this study) | 6 | 0 |
| (Marrakech) | 2010 | | | 18 | 0 |
| | 2012 | 5 (62) | 0.08 (this study) | 20 | 0 |
| | 2016 | 5 (30) | 0.17 (this study) | 0 | 16 |
| | 2017 | 3 (28) | 0.11 (this study) | 1 | 47 |
| | 2018 | 3 (27) | 0.11 (this study) | 0 | 74 |

Table 3.1.2: Temporal evolution of X_{SR} and Y chromosomes in populations from Morocco (Marrakech) and Egypt (Alexandria).

Note – “n” stands for number, and “freq” for frequency.

^a X_{SR} are determined according to their driving ability (>70% females)

Among the genotyped Y chromosomes, 153 were also characterized for their sensitivity to Paris SR drive (Table 3.3.1). This provided different results, depending on the haplotype (Figure 3.1.2). Regardless of the geographical area, we observed that the TTT and TTA Y chromosomes are always associated with high sensitivity (from 90% to 96% female progeny on average when facing a reference X_{SR} chromosome in combination with reference suppressor-free autosomes). Their segregation ratios were not significantly different from that of the sensitive reference YST8, regardless of when the tests were performed (see Montchamp-Moreau et al. 2001; Jutier et al. 2004; Table S2 for data collected in the present study). Therefore we consider them to be devoid of drive resistance. In contrast, the CAA haplotype appears associated with continuous phenotype variation, ranging from weak to complete resistance to the Paris X_{SR} drive, with the exception of a few cases showing a sensitivity similar to that of TTA Y chromosomes (39% to 92% females in progeny on average, depending on the Y chromosome, Figure 3.1.2, Table S3). The previous in-depth phenotypic characterization conducted on the population samples of Y chromosomes from Tanzania and Zimbabwe had revealed significant variation in Y-linked drive resistance in each location (Montchamp-Moreau et al. 2001).

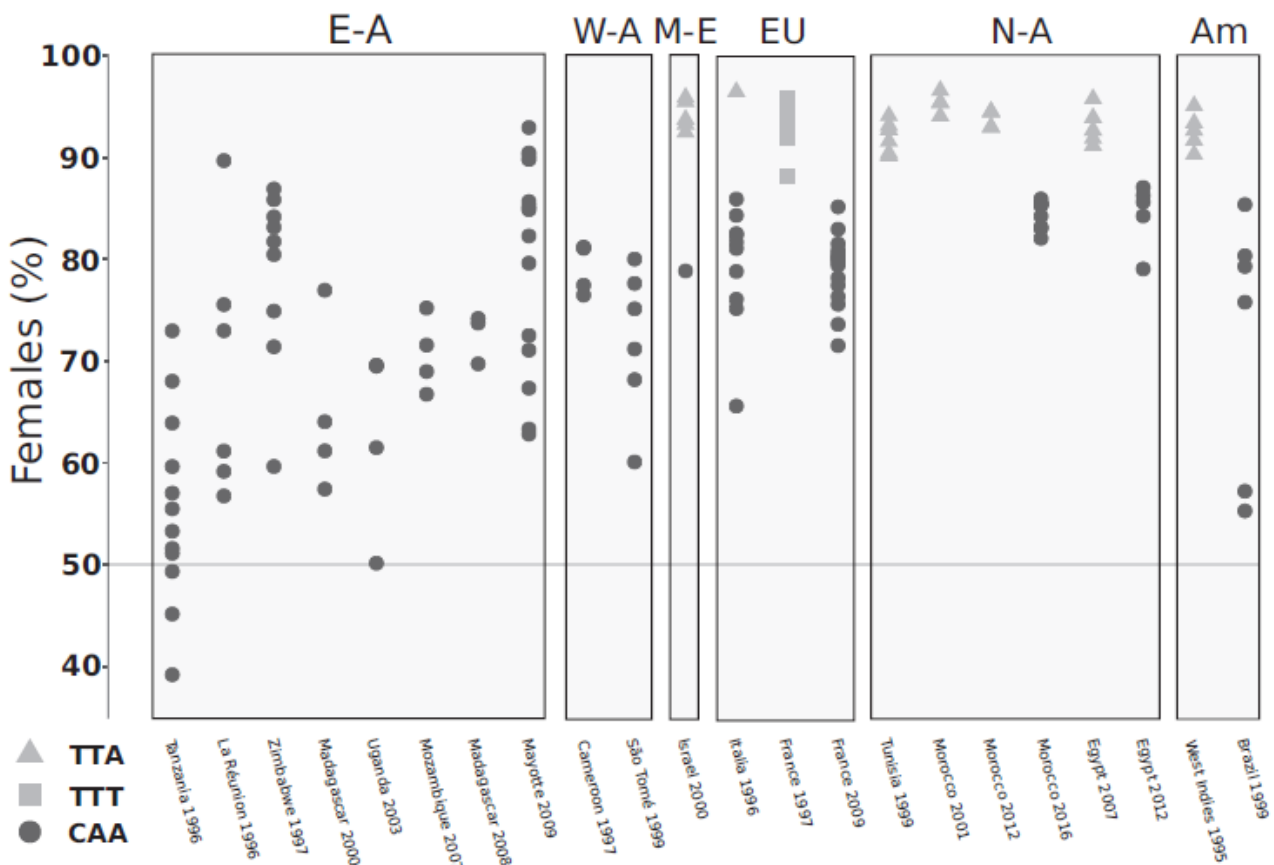


Figure 3.1.2: Relationships between haplotypes and segregation ratios of Y chromosomes from natural populations of *D. simulans*. Plot of sex ratios in the progeny of males carrying Y chromosomes with a known haplotype. All values are plotted according to the population of origin. Each dot corresponds to a single Y chromosome from that population. The y-axis value is the mean proportion of females produced by males that carry this Y chromosome together with the reference X_{SR} chromosome, in an otherwise suppressor-free genetic background.

Swift replacement of Y chromosome haplotypes in North Africa along with the rise of the Paris distorters

We then investigated the temporal evolution of Y chromosomes, in North Africa where both the sensitive TTA and the resistant CAA haplotypes had been recorded. We recurrently sampled two Mediterranean populations over time: Alexandria in Egypt and Marrakech in Morocco. The first results, displayed in Figure 3.1.2 (Egypt 2007 and 2012, Morocco 2001, 2012 and 2016), suggested a replacement of the sensitive haplotype (TTA) by the resistant one (CAA). The observation at Alexandria is consistent with the fast rise of Paris X_{SR} chromosomes and the consecutive emergence of drive suppression (global test that makes no distinction between Y-linked and autosomal effect), which were recorded in this same place between the two dates (Bastide et al. 2013). The molecular characterization of additional Y chromosomes from Alexandria at both dates confirmed the replacement (Table 3.1.2).

The temporal evolution of the Paris SR system in Marrakech, was further investigated by examining 165 additional Y chromosomes from 6 temporal samples collected from 2001 to 2018: they confirmed the replacement of the TTA lineage by the CAA lineage, which was nearly fixed in 2017 (98%) and fixed in 2018 (Table 3.1.2). Additionally, the frequency of X_{SR} chromosome was estimated by applying the previously described genetic test (Montchamp-Moreau et Cazemajor 2002) on flies collected in 2001, 2012, 2016, 2017 and 2018. While the 2001 sample showed no sign of X_{SR} chromosomes, they were found consistently in the four other samples. According to the usual test (>70% females in standardized conditions using a reference drive-sensitive background), the observed frequency of X_{SR} remained moderate (max 17% in 2016). However, using the molecular test of Bastide et al (2013) to detect *Dp_{SR}*, the segmental duplication associated with drive, among the X chromosomes in 2012 and 2016, we found that at least one half of the X chromosomes carrying *Dp_{SR}* caused only moderate sex ratio bias (< 70% female) and thus had not been classified as X_{SR} (Table S4; all X_{SR}, phenotypically defined, are carrying *Dp_{SR}*). This is in contrast with the Egyptian populations in which the molecular tests conducted by Bastide et al. (2013) showed that all of the X chromosomes carrying *Dp_{SR}* were X_{SR}.

Structural variation of the Y chromosome and sensitivity to Paris SR drive

Structural variation among Y chromosomes was examined using two-by-two combinations of four satellite probes (IGS repeats, AAGAG, AATAG and AATAAAC). In order to represent the drive sensitive lineage (TTA haplotype), we used 7 chromosomes: the reference line ST8 (Nasr'Allah, Tunisia 1983), two isofemale lines from the same location but collected in 1999, and four Y chromosomes from lines collected in Egypt in 2007. The CAA haplotype group was represented by a set of 14 Y chromosomes more or less resistant to the drive and originating from six populations sampled between 1996 and 2012 (see suppression tests in Table S5).

Only one hybridization signal, on the long arm of the Y chromosome, was observed with the AATAAAC probe regardless of the geographical origin of the chromosomes. The signal is at a distal position except for the three Y chromosomes from Egypt 2012 for which the hybridization occurs in the middle of the arm (Figure 3.1.3). For all of the Y chromosomes, two hybridization signals were detected with the AATAG probe: one at the tip of the short arm, the other two-thirds distal on the long arm (Figure 3.1.4). Hybridization with the AAGAG probe produced three signals, two on the long arm and one distal on the short arm, except for the three Y chromosomes from Uganda which showed an additional signal on the long arm (Figure 3.1.3 and 3.1.5). More variation was observed with the IGS probe (Figure 3.1.4 and 3.1.5): two signals on the Y chromosomes of all of the TTA lines and one to four signals on those of the CAA lines (one in Sao Tomé, two in Mayotte and Uganda, three in Egypt 2012 and Zimbabwe, three or four in Tanzania). All signals are located on the long arm.

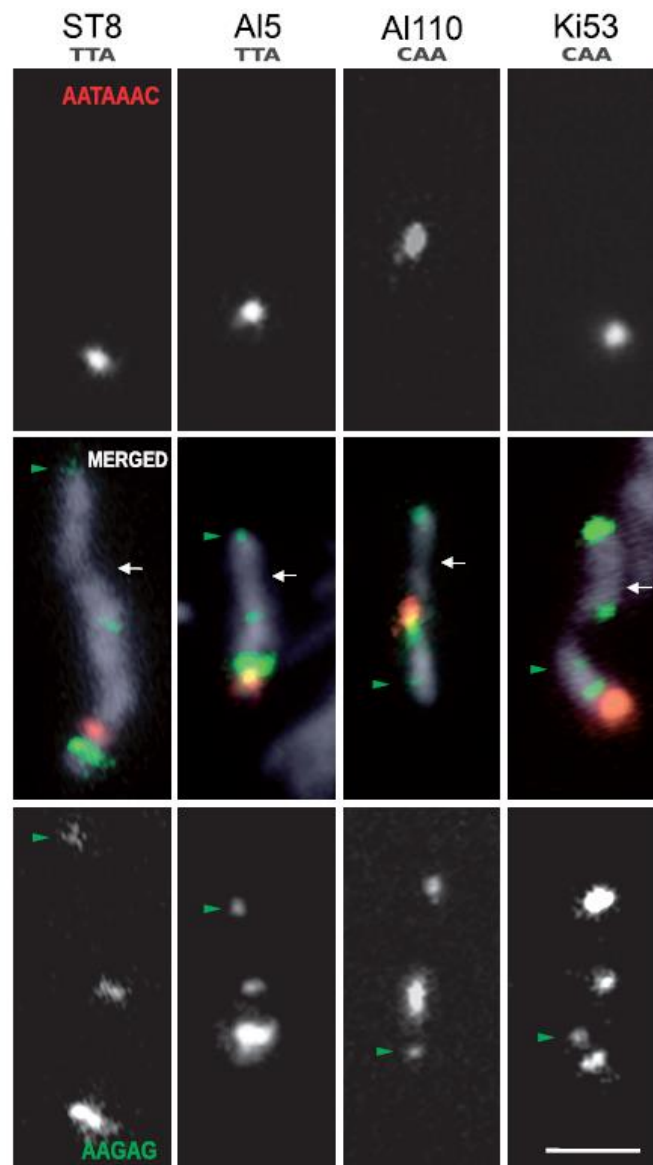


Figure 3.1.3: Double-color FISH with AATAAAC (red) and AAGAG (green) probes on mitotic Y chromosomes counterstained with DAPI. White arrows point to the Y chromosome centromere. Green arrowheads point to weak AAGAG hybridization signals. Lines are from Tunisia 1983 (ST8), Egypt 2007 (AI5), Egypt 2012 (AI110) and Uganda 2003 (Ki53). (bar = 2.5 μ m).

The relative intensity of the hybridization signals obtained with the AATAAAC satellite probe is roughly the same regardless of the populations (Figure 3.1.3). For AATAG, the telomeric signal on the short arm is generally weaker compared to the one on the long arm for all chromosomes (Figure 3.1.4). By contrast, the relative intensities of the signals obtained with the AAGAG probe vary from one chromosome to another even within the same population, Uganda Ki53 and Ki56 for example (Figure 3.1.3 and 3.1.5). Substantial variation in relative intensity is also observed with the IGS probe among the Y chromosomes from Egypt (Figure 3.1.6). Indeed, while the number of spots do not vary within each lineage – 2 spots for the TTA haplotype (Egypt 2007) and 3 spots for the CAA haplotype (Egypt 2012) - we observed important variation on their relative intensity. For example, in Egypt 2007 the telomeric signal of the IGS is stronger for YA16 than YA12. This suggests frequent expansion/contraction of tandem repeats.

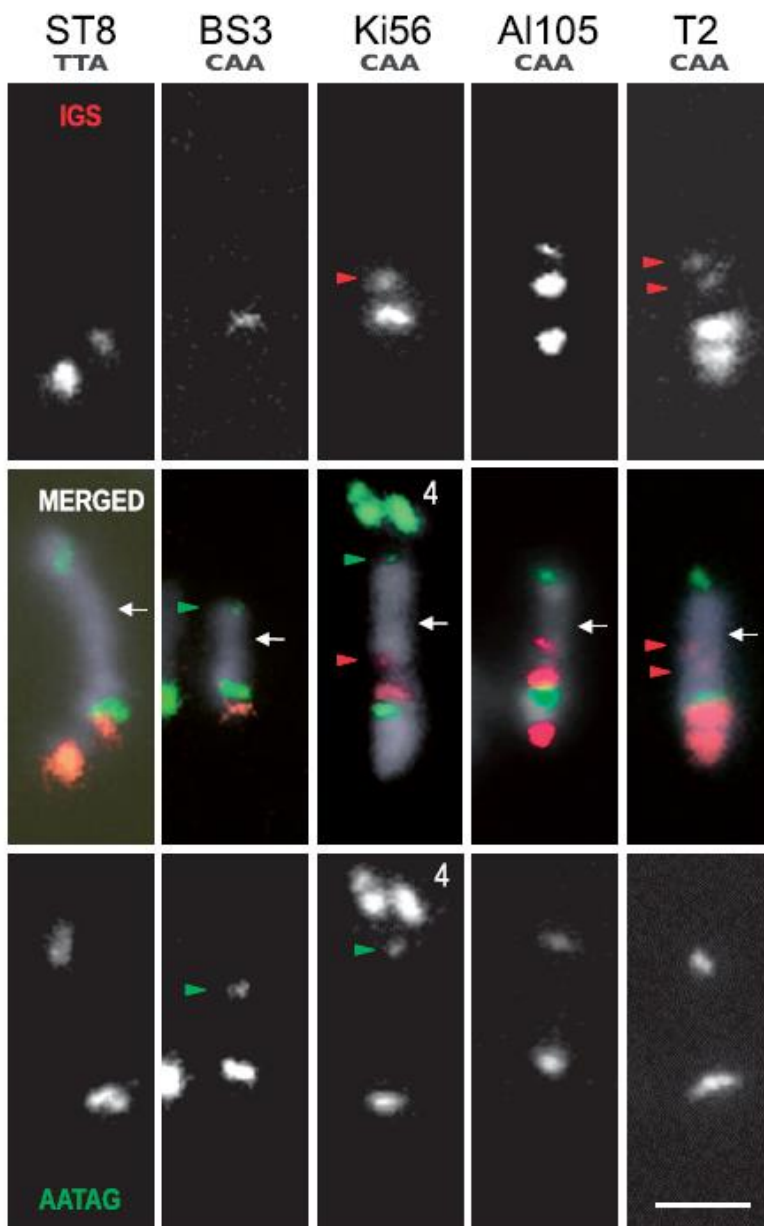


Figure 3.1.4: Double-color FISH with IGS repeats (red) and AATAG (green) probes on mitotic Y chromosomes counterstained with DAPI. White arrows point to the Y chromosome centromere. Red and green arrowheads point to weak IGS and AATAG hybridization signals, respectively. Lines are from Tunisia 1983 (ST8), Sao Tome 1999 (BS3), Uganda 2003 (Ki56), Egypt 2012 (AI105) and Tanzania 1996 (T2). Presence of the AATAG satellite on chromosome 4 is attested by the large hybridization signals seen on the Ki56 photograph. (bar = 2.5 μ m).

While the variation in the number of signals was moderate, we found many differences in the position and relative order of the different signals along the Y chromosome. For the whole set of 21 chromosomes we observed seven different organizations. They are schematized in Figure 3.1.7, together with a parsimonious scenario of rearrangement events to generate all of these organizations. Two configurations were observed for the TTA lines, which could derive from each other by a small inversion in the distal part of the long arm including the AATAAAC and AAGAG satellites (Figure 3.1.3, ST8 vs A15). Among the 15 CAA chromosomes, six different organizations of the satellites and the IGS repeats are observed. The organization of the Mayotte Y chromosomes is the same as that of ST8, which may be coincidental or reflect the conservation of an ancestral order in both TTA and CAA lineages. According to the scenario proposed in Figure 3.1.7, six rearrangements at least are required to explain the four other organizations found in the CAA lineage. This scenario also proposes that the observed variation in the number of IGS and AAGAG signals reflects the fragmentation of the corresponding tandem repeats through inversion breakpoints occurring within those loci. The three Y chromosomes from Sao Tomé show a structure very different from all the other ones. This could reflect a singular evolutionary history in West Africa, as it was found to be the case for X_{SR} chromosomes (Bastide et al. 2013).

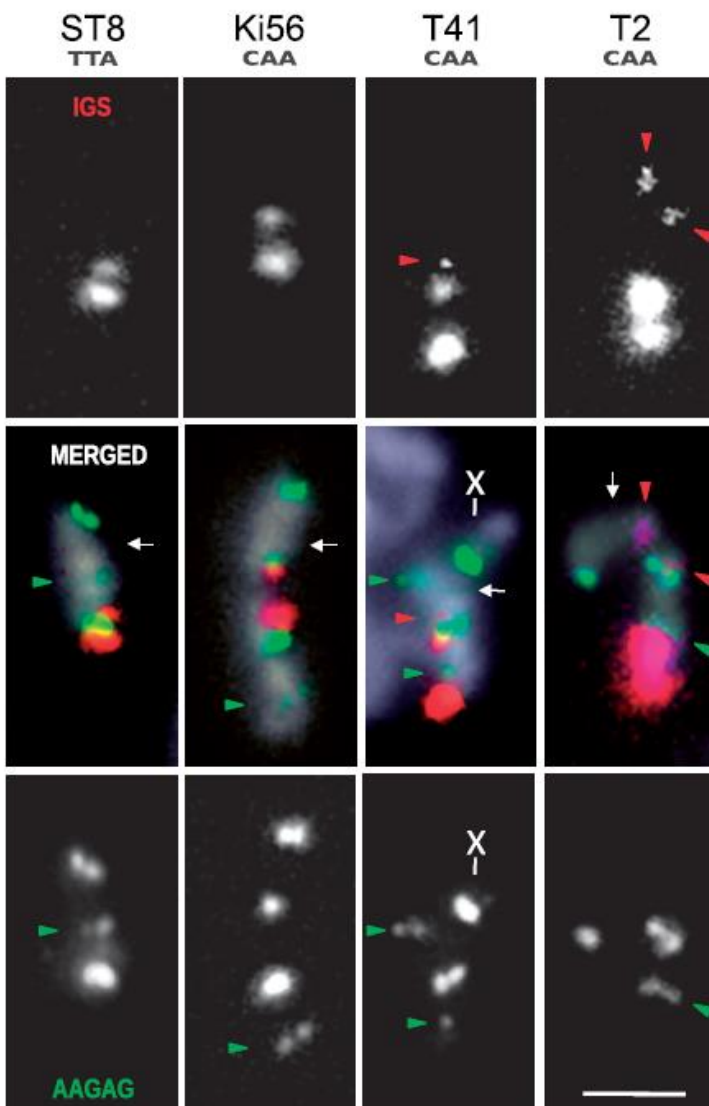


Figure 3.1.5: Double-color FISH with IGS repeats (red) and AAGAG (green) probes on mitotic Y chromosomes counterstained with DAPI. White arrows point to the Y chromosome centromere. Red and green arrowheads point to weak IGS and AAGAG hybridization signals, respectively. Lines are from Tunisia 1983 (ST8), Uganda 2003 (Ki56) and Tanzania 1996 (T41 and T2). Presence of the AAGAG satellite on the X chromosome is attested by the large hybridization signal seen on the T41 photograph. (bar = 2.5 μm).

There is no apparent relationship between the observed structural variation and the resistance to the Paris drivers (Figure 3.1.7 and Table S6). For instance, the two CAA Y chromosomes from Mayotte (YRf40 and YRf45), with significantly different levels of drive resistance (63% and 85% female, respectively), show the same structure as the drive sensitive TTA Y chromosomes from Tunisia. Similarly, within the CAA lineage, the Tanzanian YT61 (39% female) and the Zimbabwean YZ6.35 and YZ6.13 (84% and 82% female, respectively) show the same organization. At the same time, within the CAA lineage, a similar level of resistance is exhibited by chromosomes with different structures such as YKi53 (50% female) and YT2 (52% female). Despite the lack of a clear correlation with resistance, the important structural variation observed in this small subset of Y chromosomes highlight a fast evolving Y chromosome.

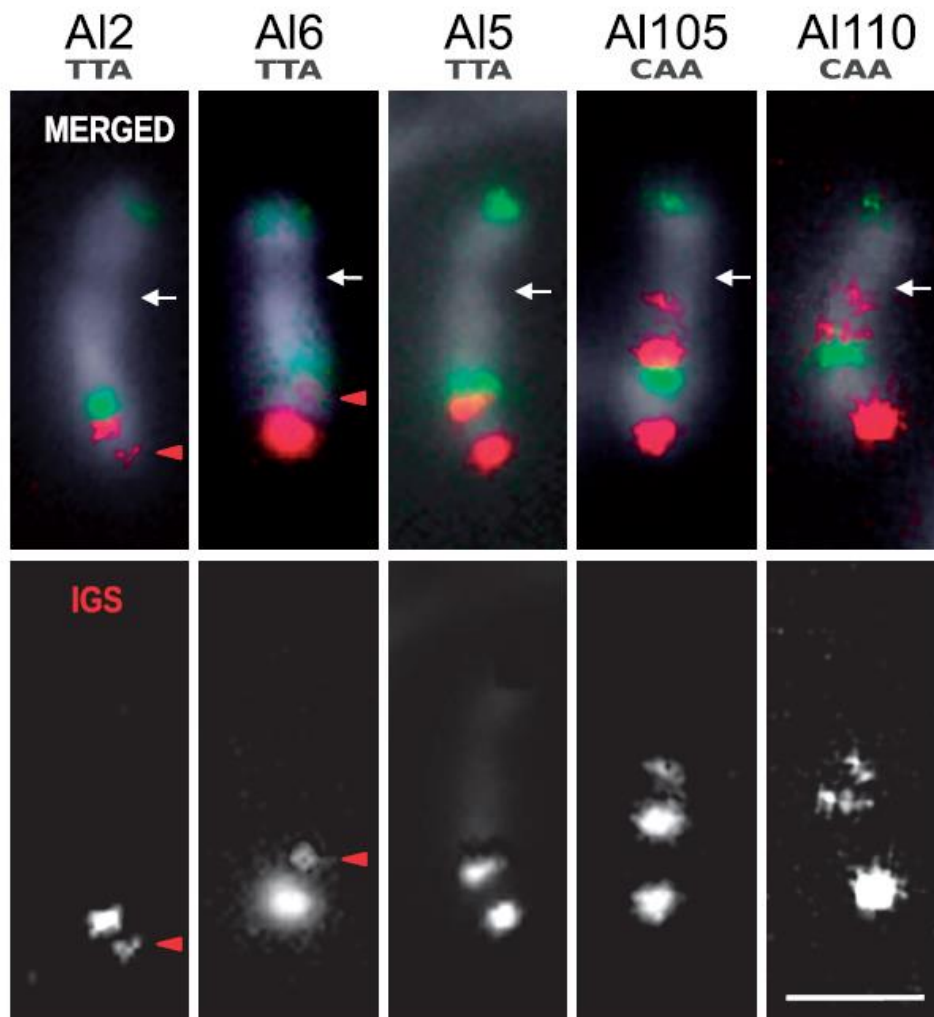


Figure 3.1.6: Double-color FISH with IGS repeats (red) and AATAG (green) probes on mitotic Y chromosomes counterstained with DAPI in the 2007 (AI2, AI5 and AI6) and the 2012 (AI105 and AI110) samples from Egypt, showing the variability in the number and the size of the IGS clusters. White arrows point to the Y chromosome centromere. Red arrowheads point to weak hybridization signals. (bar = 2.5 μ m). In the 2007 sample (TTA haplotype), two IGS clusters are detected. Depending on the Y chromosome, these clusters are nearly of the same size (AI5) or one (distal or proximal) is hardly detectable (red arrowheads, AI2 and AI6). In the 2012 sample (CAA haplotype), three IGS clusters are observed, one being weaker (AI105) or stronger (AI110) than the other two.

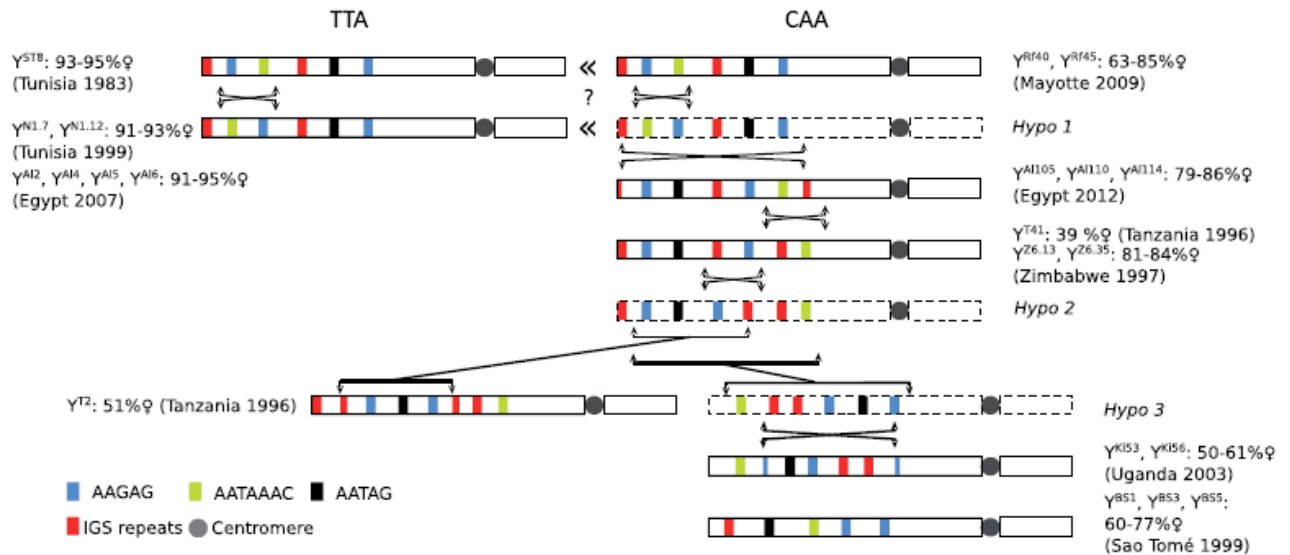


Figure 3.1.7: Schematic representation of the seven satellite organizations observed on the long arm among the Y chromosomes studied (IGS repeats in red, AATAG in black, AATAAAC in green and AAGAG in blue). The signals on the short arm are not represented because they did not revealed any structural variation. The different satellites are ordered according to their relative position detected by double-color FISH experiments. Inverted segments between chromosomes are indicated by double arrows. Hypo1, Hypo2 and Hypo3 are hypothetical steps to generate the Egypt 2012, Tanzania, Zimbabwe and Uganda structures. Centromeres are illustrated as plain gray circles.

DISCUSSION

Typical Y chromosomes are specialized genomic compartments with very few genes, large amount of satellite DNA and transposable element sequences (Bachtrog 2013). This repetitive nature makes the study of genetic diversity untractable, especially through sequencing (Hoskins et al. 2002; 2015). Despite the lack of published sequence assembly for the Y chromosome of *D. simulans* and the obstacles generated by duplicated genes (Tobler et al. 2017), we managed to examine around 10 kb of exonic and intronic sequences. We identified only three polymorphic sites, resulting in three haplotypes.

The paucity of variation in gene sequences among the Y chromosomes examined here, is in sharp contrast with their high level of structural polymorphism. The FISH performed on mitotic chromosomes, using four different satellite sequence markers, has revealed 8 different structural organizations among 21 Y chromosomes from eight geographic locations. We also observed variation in relative signal strength with two of the markers. This occurred even between chromosomes from the same population sample, indicating a very high rate of DNA satellites expansion/reduction.

Because the Y chromosome of *D. simulans* does not recombine and has a lower effective population size than the other chromosomes, a paucity of gene sequence polymorphism was not unexpected. However, by comparison, gene variation on the Y chromosome of the close relative *D. melanogaster*, appears to be more than tenfold higher: Larracuente et Clark (2013) have found 38 polymorphic sites over 7 kb in introns of the Y-linked genes *kl-2*, *kl-3*, *kl-5* and *Ory* (π ranging from 0.00266 to 0.01696 depending of the population). In contrast, in *D. simulans* only 3 polymorphic sites were detected over 10 kb in the present study (π estimated to 0.000520 using 155 nucleotide sequences with a total of 1720 sites, corresponding to three markers in genes *kl-2*, *kl-3* and *kl-5*; see methods). We suspect that the outstandingly lower genetic variation of the Y chromosome in *D. simulans*, is related to the evolution of X-linked distorters, which has never been reported in *D. melanogaster*. X-linked distorters are expected to reduce gene variation on the Y chromosome in two ways: by favoring resistant Y's and also by reducing the effective population size of the Y chromosome as long as the drivers are not completely suppressed and males are a minority in the population. The swift replacement of sensitive Ys by Y chromosomes of the resistant lineage observed in Egypt and Morocco strongly support a role of X-linked distorters. Also, in addition to Paris, two other cryptic systems involving X-linked distorters —Winters and Durham— have been identified in this species (Tao et al. 2001; Tao et al. 2007b; Meiklejohn et Tao 2010). A population genetic study of the Winters system found signatures of strong recurrent positive selection events on both the distorter and the autosomal suppressor, implying an arms race between these elements (Kingan et al. 2010). It is thus more than likely that, since the emergence of *D. simulans* around 250,000 years ago (Garrigan et al. 2012), its Y chromosome has experienced recurrent rounds of chromosome-wide selective sweep in the context of an arms race with X-linked distorters.

We show here that the spatio-temporal distribution of the Y chromosome haplotypes, especially in Africa, takes on full significance in the light of the Paris SR system. Studies devoted to the evolution of the Paris system during the last three decades have produced a clear picture of X_{SR} chromosome evolution (Atlan et al. 1997; Jutier et al. 2004; Bastide et al. 2011; 2013). In East Africa, which is its probable cradle, complete drive suppression (autosomal and Y-linked) has evolved and the X_{SR} chromosomes tend to decline while they are still spreading across the species range (Bastide et al. 2011; Bastide et al. 2013). Consistently, we found here that all of the Y chromosomes from the population samples collected between 1996 and 2001 in Sub-Saharan Africa (12 locations, 101 Y chromosomes), carry the CAA haplotype that is associated with drive suppression. In Middle East and Southern Europe populations, both distorters and suppression factors (including Y-linked ones) were rare or undetected in population samples collected from 1985 to 1995 (Atlan et al. 1997). But, in the years immediately following, substantial frequencies of X_{SR} (0.14 - 0.20) were occasionally observed (Montchamp-Moreau et al. 2001; Jutier et al. 2004), along with moderate to high frequencies of the CAA haplotype (Figure 3.1.2). Our observation that sensitive Y chromosomes of the TTA lineage have been replaced within a very few years by chromosomes of the CAA lineage in Egypt and Morocco just as X_{SR} were emerging into these populations, strongly supports the idea that drive resistant Y chromosomes do not emerge locally in response to the arrival of X_{SR} chromosomes. Instead, just as the distorters originate from East Africa, resistant Y chromosomes spread along with them. The diffusion was likely very quick in East Africa and the Indian Ocean due to the lack of population structure in this whole area, while colonization elsewhere may have been delayed because of a lower gene flow (Baudry et al. 2006; Schöfl et Schlotterer 2006). However, while population structure does exist among the standard X chromosomes no isolation by distance was found around the drive loci among X_{SR} chromosomes from East Africa to Middle East and Egypt (Bastide et al. 2013), which testifies to the high speed with which the system does spread. Consistently, the recent and rapid invasion of *D. simulans* populations by the transposable P-element, nearly simultaneously in Africa, Europe and America, suggests that gene flow throughout the whole geographic range of this human commensal has substantially increased during the last decade as a result of human activities (Hill et al. 2016).

The geographic patterns of the TTA and CAA lineages are consistent with the observations of Kopp et al. (2006). Among the 58 Y chromosomes they genotyped from East, West, South Africa, Madagascar and Indian Ocean Islands, all but one carried a “A” at position *kl-3* 204 and thus correspond to our CAA haplotype (they found a “T” at this same position on 15 Y chromosomes, from Europe, Middle East, Asia, Australia and America). The exception they reported is the Y chromosome from the Kenyan line C167.4, collected in 1973. We confirmed that Y C167.4 carries the TTA haplotype and moreover we observed that the line showed neither autosomal suppression nor Y chromosome resistance when faced with the Paris distorters (Table S7). This may reflect a state prior to the spread of drive resistance/suppression in Kenya, and possibly also prior to the spread of X_{SR} chromosomes. As both X_{SR} chromosomes and complete drive resistance have been recorded in Kenya in 1994 (Atlan et al. 1997), this narrows the possible time window for the spread of the Paris

system in this area. Due to the lack of *D. simulans* population samples collected in the 1980's or before, we cannot determine whether or not the presence of Y chromosomes carrying the CAA haplotype in East Africa predates the emergence of Paris X_{SR} chromosomes. However, both *D. sechellia* and *D. mauritiana* show C, A and A, at the three polymorphic sites, respectively. Therefore the CAA state is ancestral in the *D. simulans* clade. It is rather surprising that Y chromosomes carrying a "T" at k13-204 are found worldwide in *D. simulans* (Kopp et al. 2006, and the present study). They must have co-existed with the CAA haplotype prior to the expansion of the species out of its Afro-tropical cradle, even reaching substantial frequency at that time and/or being associated with outstanding colonizing ability. Their success might result, amongst other causes, from resistance to ancient drivers (Winters, Durham or other unknown). This possibility is worth exploring in the future. Regarding the Winters system, Branco et al. (2013) have described large variation in drive resistance against *Dox* among Y chromosomes from global origin. Two of the Y chromosomes tested namely Tunisia-Nasr'allah (1983) and Seychelles (1981), came from the two reference strains of the Paris system, Standard (sensitive TTT Y chromosome) and SR (resistant CAA Y chromosome), respectively. However, both behaved similarly when facing *Dox*, proving to be amongst the more sensitive Y's (Branco et al. 2013). This result, of course, cannot be generalized. Another element supporting the hypothesis of a former predominance of the sensitive Y lineage is the presence of substantial autosomal suppression in Sub-Saharan populations, including Kenya 1994 (Atlan et al. 2003). Autosomal suppressors are expected to spread much more slowly than resistant Y chromosomes (Atlan et al. 2003; Vaz and Carvalho 2004), especially when autosomal suppression is multigenic and this is indeed the case (Courret et al. 2019). This suggests that resistant CAA Ys were absent or could not completely suppress the drive where and when the Paris X_{SR} first arose, thus allowing the emergence of autosomal suppressors. However, since the lineage is ancestral, it is therefore possible that CAA Y chromosomes, even in the minority, were present in some populations prior to the arrival of X_{SR}'s and then evolved locally.

In both Egypt and Morocco, the shift from the TTA to the CAA haplotype occurred within a few years. This very short time span strongly supports the hypothesis that drive resistance does not impose a toll on male fitness. The rise of X_{SR} chromosomes seems much higher in Egypt than in Morocco, so that one might have expected the progression of CAA Y chromosomes to be slower in Morocco, owing to lower selective pressure. A number of reasons can explain why it is not the case. First, the invading CAA lineage may benefit from local demographic conditions (migration rate/genetic drift) or from a fitness advantage, independent of the segregation advantage conferred by its resistance to SR drive (but then why has the TTA lineage been so successful so far in spreading worldwide?). The local demographic conditions in Morocco may limit the rise of immigrant X_{SR} chromosomes, while having a limited impact on the dynamics of resistant CAA Y chromosomes. This is expected to be the case in high density populations where males that express the Paris distorters can suffer a very strong fertility disadvantage (Atlan et al. 2004). Second, our sampling, might give a mistaken perception of the dynamics of X_{SR} chromosomes. The theoretical analysis conducted by Hall (2004) has stated that sex chromosomes can undergo cyclic dynamics. If the cycling time is very fast, then a

peak of X_{SR} chromosomes in Morocco could go undetected. Third, the actual properties of the chromosomes in the wild (distortion or suppression ability) may differ from those observed in the conditions of the tests performed in the lab. It is also worth noting that our estimate of the X_{SR} frequency is based on a stringent threshold of the sex ratio bias in progeny (female percentage >70%). In the Moroccan samples we found here that about half of the X chromosomes carrying the segmental duplication characteristic of Paris X_{SR} chromosomes, expressed a weak sex ratio bias in the lab conditions. They were not taken into account to estimate the frequency of X_{SR} chromosomes, yet they may well contribute to foster the shift toward resistant Y chromosomes.

Provided that selection is strong enough to remove the drive-sensitive non-CAA haplotypes, we can wonder why we still see variations in resistance among CAA haplotypes, including cases with no or low resistance to the Paris drivers? One hypothesis is that such polymorphism can be maintained if low-resistance CAA chromosomes confer a higher fitness than high-resistance ones (balanced polymorphism). However, the rapid replacement of TTA with CAA haplotypes argues against a cost of resistance. Alternatively, the polymorphism could result from mutation-drift equilibrium. The wide and continuous variation in resistance to Paris SR drive observed among the Y chromosomes has long suggested that the causal loci are susceptible to mutation at a much greater rate than gene sequences, and likely consist of repeated DNA (Montchamp-Moreau et al. 2001). This hypothesis is strengthened by the observation made here that structural variations and satellite expansion/reduction have accumulated among the Y chromosomes of the CAA lineage, including within populations, which is revealing of very fast change in heterochromatin organization. It has been shown that, in *D. simulans* populations, complete suppression by autosomes can coexist with resistant Y chromosomes, so that the suppression potential is higher than required to ensure an equal sex ratio (Cazemajor et al. 1997). Assuming that resistant Y chromosomes spread faster than autosomal suppressors (Atlan et al. 2003), it is possible that initially strong selection operating on the Y chromosome causes the replacement of the sensitive TTA lineage by the resistant one. Then, as autosomal suppressors get settled in the population, the variation among the Y CAA chromosomes could become virtually neutral and allow Y chromosomes with different degrees of resistance to coexist within populations. One can even expect CAA Y chromosomes with low or no suppression ability to remain in East-African or Indian Ocean populations where the X_{SR} chromosomes are on the decline.

We did not find any relationship between the structural variations of the Y chromosomes and their resistance ability. This is not surprising, as our study provides only a small glimpse into the variations that must exist on the Y chromosome of *D. simulans*. These include rearrangements and satellite expansion/reduction undetectable with the four probes that we used, as well as variation associated with the traffic of transposable elements and with Y-linked gene duplication and degeneration, which have been found to occur at a high rate in the species (Tobler et al. 2017). Similarly, considerable variation in Y-chromosome morphology exists in *D. affinis* and does not appear to be associated with resistance to *Sex-Ratio* meiotic drive (Unckless et al. 2015). Yet, some satellite sequences are known to be involved in arms races with segregation distorters and/or other selfish genetic elements. In maize,

the distorter locus on abnormal chromosome 10 (Ab10) acts by “activating” 180 and 350 bp repeats, which then behave as neocentromeres (Hiatt et al. 2002). In the *D. melanogaster* autosomal drive system, *Segregation Distorter* (*SD*), the responder locus is a satellite DNA sequence, and the repeat number of this sequence is highly correlated with the level of sensitivity to distortion (Wu et al. 1988). Similarly, the Paris distorter gene *HP1D2* encode a protein likely involved in the packaging of highly repeated Y chromosome regions (Helleu et al. 2016). Variation in satellite quantity and/or sequence could modify the distribution and abundance of proteins involved in the drive process —as *HP1D2*— along the Y chromosome and ultimately affect their impact.

In addition, the variation that we observed in relative size and/or organization of repeated DNA blocks may contribute to Y-linked regulatory variation (YRV) —*i.e.* the ability of the Y chromosome to modulate the expression of hundreds of genes located on the other chromosomes (Branco et al. 2013). This phenomenon was reported in germline and somatic tissues of *D. melanogaster* (Lemos et al 2008; Lemos et al 2010). The mechanistic hypotheses conceived to explain YRV are reviewed in Francisco et Lemos (2014). Among them, the heterochromatin sink model proposes that blocks of repeated sequences on the Y chromosome trap transcription factors or chromatin regulators, thus modifying their distribution along the genome (Zuckerandl 1974; Henikoff 1996). This may be the case for the AAGAG satellite, one of the binding sites for the transcription factor GAGA (Zhang et al. 2000). It is worth noting that the relative intensities of the signals that we obtained with the AAGAG probe vary from one chromosome to another even within the same population.

Due to their repetitive nature, satellite sequences are difficult to identify and quantify. However, a recent study demonstrates that it is possible to study population specific satellite variation by using a global DNA-sequencing approach (Wei et al. 2014). Similarly, an extensive high-throughput DNA sequencing approach would allow us to describe more precisely the diversity and abundance of Y-linked satellites across different Y chromosomes. Such approaches would give us the opportunity to investigate the potential relationship between satellite sequences and Y chromosome resistance.

PERSPECTIVES – CONCLUSIVE REMARKS

Our multi-pronged approach to decipher Y chromosome evolution allowed us to reveal that even under strong selective pressures and an extremely low level of gene sequence variation, the Y chromosomes are still highly diversified at the structural level. This diversification is led by the rapid evolution of repeated sequences, and their impact on the Y chromosome could be necessary and sufficient for drive resistance to emerge. To explore this hypothesis, a more in-depth analysis of diversity using cytology and high-throughput DNA/RNA sequencing approaches on different Y chromosomes, is necessary. In any case, the evolution of X-linked segregation distorters, which is a recurrent phenomenon in *D. simulans*, is profoundly driving the evolution of the Y chromosome, as demonstrated by the swift replacement of haplotypes recorded in North Africa.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Pierre Gérard, members of the lab and three anonymous reviewers for helpful discussions and comments. We thank Patrick Ferree for providing the satellite probes FISH protocol, and J.R. David for fly resources. This work was supported by the Centre National de la Recherche Scientifique (UMR 9191) and a grant from the Agence Nationale de la Recherche (ANR-12-BSV7-0014-01). Q.H. and C.C. were funded by a French ministerial scholarship.

SUPPLEMENTARY DATA

kl-2

```

1      10      20      30      40      50      60
TTA TCTCTTTTCTATTTTTGCATGAAACCTAAATTGGGCACGTGAAACCTGCACGCTTGGTCAG
TTT TCTCTTTTCTATTTTTGCATGAAACCTAAATTGGGCACGTGAAACCTGCACGCTTGGTCAG
CAA TCTCTTTTCTATTTTTGCATGAAACCTAAATTGGGCACGTGAAACCTGCACGCTTGGTCAG
    
```

kl-3

```

TTA AATTA AATTTCTTCAAACA AAGATATCTTTGTTCCAAACTTTAAATAACAGTTGATAAAT
TTT AATTA AATTTCTTCAAACA AAGATATCTTTGTTCCAAACTTTAAATAACAGTTGATAAAT
CAA AATTA AATTTCTTCAAACA AAGATATCTTTGTTCCAAACTTTAAATAACAGTTGATAAAT
    
```

kl-5

```

TTA GTGCTCGGATTA AATGTGAGTATCAAAGTAATTTCAAAAATGATTATTCCTACTTGTAAT
TTT GTGCTCGGATTA AATGTGAGTATCAAAGTAATTTCAAAAATGATTATTCCTACTTGTAAT
CAA GTGCTCGGATTA AATGTGAGTATCAAAGTAATTTCAAAAATGATTATTCCTACTTGTAAT
    
```

Figure S1: Sequence alignments for the three polymorphic markers in genes kl-2, kl-3 and kl-5, defining the three haplotypes: CAA, TTA and TTT.

| | kl-2 | kl-3 | kl-5 |
|-----------------|---|--|--|
| D. melanogaster | TATTTTTGCATGAAACCTAACTTGGCACGTGAAACCTGCAC | TCTTCAAACAAGATATCTTTGTTCCAAACTTTAAATAACA | TTAAATGTGAGTATCAAAGTAATTTCAAAAATGATTATTC |
| D. mauritiana | TATTTTTGCATGAAACCTAACTTGGCACGTGAAACCTGCAC | TCTTCAAACAAGATATCTTTGTTCCAAACTTTAAATAACA | TTAAATGTGAGTATCAAAGTAATTTCAAAAATGATTATTC |
| D. sechellia | TATTTTTGCATGAAACCTAACTTGGCACGTGAAACCTGCAC | TCTTCAAACAAGATATCTTTGTTCCAAACTTTAAATAACA | TTAAATGTGAGTATCAAAGTAATTTCAAAAATGATTATTC |
| D. simulans-CAA | TATTTTTGCATGAAACCTAACTTGGCACGTGAAACCTGCAC | TCTTCAAACAAGATATCTTTGTTCCAAACTTTAAATAACA | TTAAATGTGAGTATCAAAGTAATTTCAAAAATGATTATTC |
| D. simulans-TTA | TATTTTTGCATGAAACCTAACTTGGCACGTGAAACCTGCAC | TCTTCAAACAAGATATCTTTGTTCCAAACTTTAAATAACA | TTAAATGTGAGTATCAAAGTAATTTCAAAAATGATTATTC |
| D. simulans-TTT | TATTTTTGCATGAAACCTAACTTGGCACGTGAAACCTGCAC | TCTTCAAACAAGATATCTTTGTTCCAAACTTTAAATAACA | TTAAATGTGAGTATCAAAGTAATTTCAAAAATGATTATTC |

Figure S3.2: Sequence alignments for the three markers in genes kl-2, kl-3 and kl-5 across the four species: D. simulans, D. sechellia, D. mauritiana and D. melanogaster.

Table 81: List of markers amplified and sequenced across Y chromosomes.

| Gene | Marker name | Designed in | Forward Primer | Reverse Primer | Size bp | Polymorphic (position) | Reference | Comments |
|--------|--------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|---------|------------------------|---------------------------|---|
| Oxy | Oxy_intron3b | <i>D. simulans</i> | aaactcaggagcagcactctttag | taagagcagcagcagcagcag | 527 | No | This study | |
| Pp1-Y2 | Pp1-Y2_2 | <i>D. simulans</i> | tgcatctcagcagcagcagcagc | gagcagcagcagcagcagcagc | 660 | UNK | This study | Duplicated region ** Discarded. |
| | Pp1-Y2_3 | <i>D. simulans</i> | tatctcagcagcagcagcagc | ggcagcagcagcagcagcagc | 638 | UNK | This study | Duplicated region ** Discarded. |
| | Pp1-Y | <i>D. simulans</i> | tgctgatctcagcagcagcagc | cagcagcagcagcagcagcagc | 660 | UNK | This study | Duplicated region ** Discarded. |
| PRY | PRY1 | <i>D. simulans</i> | tgctgatctcagcagcagcagc | acagcagcagcagcagcagcagc | 705 | No | This study | |
| | PRY2 | <i>D. simulans</i> | acagcagcagcagcagcagcagc | acacacagcagcagcagcagcagc | 775 | No | This study | |
| CCY | CCY_dnu11803 | <i>D. simulans</i> | gacagcagcagcagcagcagc | tgctgatctcagcagcagcagc | 790 | No | This study | |
| | M2-1 | <i>D. melanogaster</i> | aaactcaggagcagcactctttag | gtagcagcagcagcagcagcagc | 645 | No | This study | |
| M2 | M2-2 | <i>D. simulans</i> | agcagcagcagcagcagcagc | gtagcagcagcagcagcagcagc | 672 | Yes | This study | |
| | M2-Kopp | <i>D. melanogaster</i> | gacagcagcagcagcagcagc | gtagcagcagcagcagcagcagc | 560 | UNK | Kopp et al., 2006 | Frames 61-2 Kopp et al., 2006 marker (61-2 206, 61-2 246 polymorphic sites); Duplicated region ** Discarded. |
| | M2-7 | <i>D. simulans</i> | aaactcaggagcagcactctttag | gtagcagcagcagcagcagcagc | 630 | No | This study | |
| | M2-8 | <i>D. simulans</i> | tgctgatctcagcagcagcagc | acacacagcagcagcagcagcagc | 630 | No | This study | |
| M3 | M3-2 | <i>D. simulans</i> | agcagcagcagcagcagcagc | gtagcagcagcagcagcagcagc | 660 | Yes | This study | Frames 61-3 Kopp et al., 2006 marker (600 bp), only one polymorphic site at 61-3 204, no polymorphism at position 61-3 205. |
| | M3-3 | <i>D. simulans</i> | tgctgatctcagcagcagcagc | gtagcagcagcagcagcagcagc | 651 | No | This study | |
| M4 | M4-3 | <i>D. simulans</i> | acacacagcagcagcagcagc | acacacagcagcagcagcagcagc | 665 | Yes | This study | |
| | M4-5 | <i>D. simulans</i> | gtagcagcagcagcagcagcagc | acacacagcagcagcagcagcagc | 744 | No | This study | |
| | M4-6 | <i>D. simulans</i> | aaactcaggagcagcactctttag | cagcagcagcagcagcagcagc | 254 | No | Zurrocos and James (1995) | Did not find Zurrocos and James (1995) polymorphic site (64-5 1377), described in Australia, Hawaii et Guadeloupe D. simulans populations |

1,2034

Table S2: Sex ratio (% of females) comparison between TIA Y chromosomes and ST8 control.

| Alexandria 2007 TIA | | | | | | |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| AI-2 | AI-4 | AI-5 | AI-6 | AI-9 | ctrl | ST8 |
| 90,16 | 94,34 | 94,51 | 89,47 | 82,14 | 96,15 | 96,15 |
| 92,50 | 97,18 | 93,02 | 87,30 | 92,77 | 95,50 | 95,50 |
| 90,32 | 95,00 | 95,52 | 93,62 | 89,39 | 95,29 | 95,29 |
| 95,31 | 95,05 | 94,29 | 95,24 | 95,54 | 90,00 | 90,00 |
| 84,91 | 95,15 | 93,40 | 92,59 | 91,38 | 98,72 | 98,72 |
| 94,74 | 96,12 | 97,73 | 97,47 | 93,42 | 95,38 | 95,38 |
| 94,37 | 92,86 | 91,01 | 94,44 | 93,18 | 91,53 | 91,53 |
| 91,40 | 96,00 | 92,31 | 92,00 | 90,74 | 90,74 | 90,74 |
| 89,36 | 98,25 | 98,21 | 92,45 | 95,59 | 95,59 | 95,59 |
| 95,24 | 97,03 | 88,51 | 91,67 | | | |

| Marrakech 2012 TIA | | | | | | |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| Mar15 | Mar19 | Mar20 | Mar21 | ctrl | ST8 | |
| 84,93 | 94,05 | 94,27 | 98,18 | 96,15 | 96,15 | |
| 98,91 | 94,03 | 91,25 | 92,16 | 95,50 | 95,50 | |
| 93,94 | 94,34 | 95,38 | 95,71 | 95,29 | 95,29 | |
| 86,11 | 97,70 | 93,15 | 92,05 | 90,00 | 90,00 | |
| 93,75 | 89,16 | 98,67 | 95,88 | 98,72 | 98,72 | |
| 100,00 | 87,50 | 98,33 | 88,00 | 95,38 | 95,38 | |
| 95,16 | 95,10 | 89,92 | 97,30 | 91,53 | 91,53 | |
| 90,72 | 91,49 | 94,74 | 96,12 | 90,74 | 90,74 | |
| | | | | 95,59 | 95,59 | |

| Marrakech 2001 TIA | | | | | | |
|--------------------|-------|-------|--------|-------|-------|--|
| m5 | m10 | m15 | m20 | ctrl | ST8 | |
| 94,09 | 87,50 | 86,14 | 91,78 | 90,22 | 90,22 | |
| 94,81 | 93,62 | 93,55 | 91,92 | 91,94 | 91,94 | |
| 95,65 | 96,19 | 93,55 | 96,36 | 94,12 | 94,12 | |
| 95,65 | 96,88 | 93,68 | 97,00 | 95,35 | 95,35 | |
| 95,83 | 96,99 | 95,40 | 98,54 | 95,92 | 95,92 | |
| 95,91 | 97,39 | 97,63 | 100,00 | 92 | 92 | |
| | 98,95 | 98,11 | 100,00 | 89,33 | 89,33 | |
| | | | | 94,17 | 94,17 | |
| | | | | 93,62 | 93,62 | |
| | | | | 94,2 | 94,2 | |
| | | | | 89,13 | 89,13 | |
| | | | | 90,32 | 90,32 | |
| | | | | 93,02 | 93,02 | |
| | | | | 96,67 | 96,67 | |
| | | | | 93,9 | 93,9 | |
| | | | | 91,67 | 91,67 | |
| | | | | 94,23 | 94,23 | |
| | | | | 96,3 | 96,3 | |
| | | | | 96,25 | 96,25 | |
| | | | | 96,15 | 96,15 | |
| | | | | 94,92 | 94,92 | |
| | | | | 89,16 | 89,16 | |
| | | | | 94,94 | 94,94 | |
| | | | | 100 | 100 | |

Post hoc Dunn Test with 'Bonferroni correction':

| Comparison | Z | P.unadj | P.adj |
|------------|-------------|------------|------------|
| AI-6 | -2,8449177 | 0,00444229 | 0,06663435 |
| AI-2 | -1,2682163 | 0,20472071 | 1 |
| AI-4 | 1,57670137 | 0,11486425 | 1 |
| AI-2 | -0,397603 | 0,69092288 | 1 |
| AI-4 | 2,44731474 | 0,01433251 | 0,21588764 |
| AI-5 | 0,87061337 | 0,3839653 | 1 |
| AI-2 | 0,07376345 | 0,94119861 | 1 |
| AI-4 | 2,65548419 | 0,00791947 | 0,11879197 |
| AI-5 | 1,22465101 | 0,22070674 | 1 |
| AI-6 | 0,43458225 | 0,66386568 | 1 |
| AI-2 | -1,8675263 | 0,06182813 | 0,92742198 |
| AI-4 | 0,90151328 | 0,36731548 | 1 |
| AI-5 | -0,16331352 | 0,52664539 | 1 |
| AI-6 | -1,480528 | 0,1387324 | 1 |
| AI-9 | -1,7748099 | 0,07592928 | 1 |

| | |
|-------------------------------|---------|
| Kruskal-Wallis rank sum test: | |
| data: Sex Ratio by Lines | 12,713 |
| chi-squared | 5 |
| df | 5 |
| p-value | 0,02622 |

| | |
|-------------------------------|--------|
| Kruskal-Wallis rank sum test: | |
| data: Sex Ratio by Lines | 2,4501 |
| chi-squared | 5 |
| df | 5 |
| p-value | 0,784 |

| | |
|-------------------------------|--------|
| Kruskal-Wallis rank sum test: | |
| data: Sex Ratio by Lines | 7,0443 |
| chi-squared | 4 |
| df | 4 |
| p-value | 0,1336 |

Table S3: List of Y chromosomes that are both genotyped (haplotype) and phenotyped (sex ratio in progeny) – presented in Figure 2.

| Line | Sex ratio (% of females in the progeny) | Std. dev. | Y chromosome haplotype | Country | City | Year | Continental Region |
|-------|---|-----------|------------------------|-------------|----------------|------|--------------------|
| A08 | 95,02 | 2,95 | TTA | west indies | Saint Martin | 1995 | Am |
| A14 | 92,82 | 2,21 | TTA | west indies | Saint Martin | 1995 | Am |
| A17 | 93,33 | 2,41 | TTA | west indies | Saint Martin | 1995 | Am |
| A18 | 90,25 | 6,73 | TTA | west indies | Saint Martin | 1995 | Am |
| A19 | 91,83 | 4,93 | TTA | west indies | Saint Martin | 1995 | Am |
| I02 | 78,78 | 4,50 | CAA | Italy | Sticciano | 1996 | Eu |
| I05 | 76,05 | 3,00 | CAA | Italy | Sticciano | 1996 | Eu |
| I06 | 81,83 | 2,15 | CAA | Italy | Sticciano | 1996 | Eu |
| I14 | 82,48 | 3,50 | CAA | Italy | Sticciano | 1996 | Eu |
| I16 | 81,03 | 2,34 | CAA | Italy | Sticciano | 1996 | Eu |
| I23 | 82,36 | 8,04 | CAA | Italy | Sticciano | 1996 | Eu |
| I30 | 65,58 | 19,91 | CAA | Italy | Sticciano | 1996 | Eu |
| I45 | 85,87 | 4,82 | CAA | Italy | Sticciano | 1996 | Eu |
| I48 | 96,40 | 2,92 | TTA | Italy | Sticciano | 1996 | Eu |
| I54 | 84,28 | 9,60 | CAA | Italy | Sticciano | 1996 | Eu |
| I61 | 75,14 | 5,33 | CAA | Italy | Sticciano | 1996 | Eu |
| R108 | 59,18 | 4,54 | CAA | La Réunion | Bellepierre | 1996 | E-A |
| R108 | 61,17 | 12,42 | CAA | La Réunion | Bellepierre | 1996 | E-A |
| R112 | 89,65 | 4,63 | CAA | La Réunion | Bellepierre | 1996 | E-A |
| R116 | 72,97 | 5,37 | CAA | La Réunion | Bellepierre | 1996 | E-A |
| R149 | 56,77 | 5,67 | CAA | La Réunion | Bellepierre | 1996 | E-A |
| R162 | 75,53 | 16,04 | CAA | La Réunion | Bellepierre | 1996 | E-A |
| T12 | 49,37 | 8,06 | CAA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | E-A |
| T15 | 68,02 | 9,64 | CAA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | E-A |
| T16 | 45,19 | 9,79 | CAA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | E-A |
| T2 | 51,82 | 4,91 | CAA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | E-A |
| T21 | 57,05 | 4,22 | CAA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | E-A |
| T33 | 59,65 | 4,06 | CAA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | E-A |
| T37 | 63,92 | 9,83 | CAA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | E-A |
| T39 | 72,96 | 7,79 | CAA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | E-A |
| T40 | 55,51 | 3,96 | CAA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | E-A |
| T61 | 39,24 | 11,46 | CAA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | E-A |
| T8 | 53,31 | 2,19 | CAA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | E-A |
| T9 | 51,14 | 4,98 | CAA | Tanzania | Kilimanjaro | 1996 | E-A |
| y13 | 77,43 | 9,89 | CAA | Cameroon | Yaoundé | 1997 | W-A |
| y14 | 76,46 | 9,91 | CAA | Cameroon | Yaoundé | 1997 | W-A |
| y7 | 81,05 | 9,83 | CAA | Cameroon | Yaoundé | 1997 | W-A |
| y8 | 81,16 | 3,59 | CAA | Cameroon | Yaoundé | 1997 | W-A |
| N01 | 94,11 | 2,09 | TTT | France | Trouville | 1997 | Eu |
| N04 | 94,72 | 2,45 | TTT | France | Trouville | 1997 | Eu |
| N08 | 88,15 | 5,44 | TTT | France | Trouville | 1997 | Eu |
| N09 | 95,67 | 1,76 | TTT | France | Trouville | 1997 | Eu |
| N10 | 92,56 | 4,53 | TTT | France | Trouville | 1997 | Eu |
| N16 | 93,55 | 2,13 | TTT | France | Trouville | 1997 | Eu |
| N22 | 91,86 | 3,56 | TTT | France | Trouville | 1997 | Eu |
| N26 | 95,74 | 2,34 | TTT | France | Trouville | 1997 | Eu |
| N27 | 94,90 | 2,22 | TTT | France | Trouville | 1997 | Eu |
| Z6-01 | 86,87 | 2,36 | CAA | Zimbabwe | Harare | 1997 | E-A |
| Z6-02 | 59,66 | 5,92 | CAA | Zimbabwe | Harare | 1997 | E-A |
| Z6-03 | 83,12 | 5,43 | CAA | Zimbabwe | Harare | 1997 | E-A |
| Z6-13 | 84,14 | 2,57 | CAA | Zimbabwe | Harare | 1997 | E-A |
| Z6-17 | 85,82 | 3,52 | CAA | Zimbabwe | Harare | 1997 | E-A |
| Z6-21 | 74,89 | 7,93 | CAA | Zimbabwe | Harare | 1997 | E-A |
| Z6-24 | 71,40 | 6,28 | CAA | Zimbabwe | Harare | 1997 | E-A |
| Z6-29 | 80,44 | 3,03 | CAA | Zimbabwe | Harare | 1997 | E-A |
| Z6-35 | 81,71 | 1,67 | CAA | Zimbabwe | Harare | 1997 | E-A |
| ri1 | 79,27 | 8,11 | CAA | Brazil | Rio de Janeiro | 1999 | Am |
| ri15 | 57,23 | 13,01 | CAA | Brazil | Rio de Janeiro | 1999 | Am |
| ri16 | 85,34 | 16,98 | CAA | Brazil | Rio de Janeiro | 1999 | Am |
| ri29 | 55,30 | 6,08 | CAA | Brazil | Rio de Janeiro | 1999 | Am |
| ri32 | 80,32 | 7,86 | CAA | Brazil | Rio de Janeiro | 1999 | Am |
| ri33 | 75,77 | 7,94 | CAA | Brazil | Rio de Janeiro | 1999 | Am |
| bs1 | 77,61 | 14,98 | CAA | sao tome | Bon Successo | 1999 | W-A |
| bs3 | 75,12 | 11,92 | CAA | sao tome | Bon Successo | 1999 | W-A |
| bs5 | 60,10 | 10,23 | CAA | sao tome | Bon Successo | 1999 | W-A |
| bs9 | 71,18 | 11,23 | CAA | sao tome | Bon Successo | 1999 | W-A |

| | | | | | | | |
|----------|-------|-------|-----|-------------|--------------|------|-----|
| mc1 | 68,17 | 8,82 | CAA | sao tome | Bon Successo | 1999 | W-A |
| sato1 | 79,99 | 9,95 | CAA | sao tome | Bon Successo | 1999 | W-A |
| N1-10 | 90,11 | 5,94 | TTA | Tunisia | Nasrallah | 1999 | N-A |
| N1-12 | 93,08 | 3,97 | TTA | Tunisia | Nasrallah | 1999 | N-A |
| N1-16 | 90,37 | 5,05 | TTA | Tunisia | Nasrallah | 1999 | N-A |
| N1-4 | 92,67 | 4,89 | TTA | Tunisia | Nasrallah | 1999 | N-A |
| N1-7 | 91,53 | 3,77 | TTA | Tunisia | Nasrallah | 1999 | N-A |
| N2-14 | 94,04 | 3,15 | TTA | Tunisia | Nasrallah | 1999 | N-A |
| ST8_2001 | 95,60 | 1,62 | TTA | Tunisia_ST8 | Nasrallah | 1999 | N-A |
| ST8_2004 | 93,52 | 0,96 | TTA | Tunisia_ST8 | Nasrallah | 1999 | N-A |
| ST8_2008 | 93,32 | 4,95 | TTA | Tunisia_ST8 | Nasrallah | 1999 | N-A |
| ST8_2014 | 94,39 | 2,54 | TTA | Tunisia_ST8 | Nasrallah | 1999 | N-A |
| e1 | 93,21 | 4,80 | TTA | Israel | Eilat | 2000 | M-E |
| e10 | 92,42 | 8,86 | TTA | Israel | Eilat | 2000 | M-E |
| e12 | 95,84 | 2,50 | TTA | Israel | Eilat | 2000 | M-E |
| e17 | 95,43 | 2,78 | TTA | Israel | Eilat | 2000 | M-E |
| e23 | 78,83 | 20,19 | CAA | Israel | Eilat | 2000 | M-E |
| e3 | 93,69 | 6,38 | TTA | Israel | Eilat | 2000 | M-E |
| ta21 | 57,44 | 4,95 | CAA | Madagascar | Antananarivo | 2000 | E-A |
| ta26 | 61,19 | 7,20 | CAA | Madagascar | Antananarivo | 2000 | E-A |
| ta27 | 64,05 | 14,98 | CAA | Madagascar | Antananarivo | 2000 | E-A |
| ta28 | 76,94 | 5,80 | CAA | Madagascar | Antananarivo | 2000 | E-A |
| m10 | 95,36 | 3,82 | TTA | Morocco | Marrakech | 2001 | N-A |
| m15 | 94,01 | 3,97 | TTA | Morocco | Marrakech | 2001 | N-A |
| m20 | 96,52 | 3,47 | TTA | Morocco | Marrakech | 2001 | N-A |
| m5 | 95,30 | 0,71 | TTA | Morocco | Marrakech | 2001 | N-A |
| Ki51 | 69,49 | 6,85 | CAA | Uganda | Kibale | 2003 | E-A |
| Ki52 | 69,60 | 5,08 | CAA | Uganda | Kibale | 2003 | E-A |
| Ki53 | 50,17 | 2,80 | CAA | Uganda | Kibale | 2003 | E-A |
| Ki56 | 61,51 | 5,90 | CAA | Uganda | Kibale | 2003 | E-A |
| AI-2 | 91,83 | 3,31 | TTA | Egypt | Alexandria | 2007 | N-A |
| AI-4 | 95,70 | 1,56 | TTA | Egypt | Alexandria | 2007 | N-A |
| AI-5 | 93,85 | 2,93 | TTA | Egypt | Alexandria | 2007 | N-A |
| AI-6 | 92,63 | 2,87 | TTA | Egypt | Alexandria | 2007 | N-A |
| AI-9 | 91,12 | 4,39 | TTA | Egypt | Alexandria | 2007 | N-A |
| Ch001 | 71,56 | 10,04 | CAA | Mozambique | Chimoio | 2007 | E-A |
| Ch008 | 66,74 | 8,62 | CAA | Mozambique | Chimoio | 2007 | E-A |
| Ch009 | 68,97 | 4,73 | CAA | Mozambique | Chimoio | 2007 | E-A |
| Ch011 | 75,20 | 8,40 | CAA | Mozambique | Chimoio | 2007 | E-A |
| Ma235 | 74,17 | 8,82 | CAA | Madagascar | Antananarivo | 2008 | E-A |
| Ma236 | 73,71 | 6,31 | CAA | Madagascar | Antananarivo | 2008 | E-A |
| Ma249 | 69,72 | 6,56 | CAA | Madagascar | Antananarivo | 2008 | E-A |
| Gth1 | 81,49 | 4,42 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth10 | 76,30 | 5,16 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth12 | 73,59 | 10,70 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth14 | 80,84 | 2,88 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth15 | 75,56 | 6,04 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth16 | 78,14 | 10,88 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth17 | 82,93 | 1,40 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth18 | 71,51 | 7,72 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth2 | 79,39 | 4,45 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth3 | 80,06 | 7,02 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth4 | 80,50 | 7,22 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth6 | 79,71 | 4,47 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth7 | 85,11 | 4,81 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth8 | 80,14 | 6,10 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Gth9 | 77,43 | 0,90 | CAA | France | Gotheron | 2009 | Eu |
| Rf17 | 84,96 | 9,69 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf19 | 89,81 | 2,17 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf21 | 62,83 | 9,81 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf25 | 72,50 | 15,78 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf26 | 89,79 | 3,98 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf36 | 90,39 | 4,32 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf39 | 71,06 | 7,47 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf40 | 63,33 | 8,39 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf45 | 85,63 | 7,21 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf46 | 92,89 | 2,00 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf78 | 90,28 | 1,89 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf83 | 79,59 | 9,92 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf85 | 84,84 | 7,42 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf90 | 67,34 | 7,01 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |

| | | | | | | | |
|--------|-------|-------|-----|---------|--------------|------|-----|
| Rf92 | 82,28 | 16,10 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Rf94 | 85,21 | 8,34 | CAA | Mayotte | Mont Combani | 2009 | E-A |
| Al-105 | 85,60 | 7,81 | CAA | Egypt | Alexandria | 2012 | N-A |
| Al-110 | 86,24 | 5,13 | CAA | Egypt | Alexandria | 2012 | N-A |
| Al-114 | 79,03 | 5,55 | CAA | Egypt | Alexandria | 2012 | N-A |
| Al-115 | 84,23 | 5,45 | CAA | Egypt | Alexandria | 2012 | N-A |
| Al-116 | 87,02 | 4,16 | CAA | Egypt | Alexandria | 2012 | N-A |
| Mar15 | 92,94 | 5,45 | TTA | Morocco | Marrakech | 2012 | N-A |
| Mar19 | 92,92 | 3,33 | TTA | Morocco | Marrakech | 2012 | N-A |
| Mar20 | 94,46 | 3,08 | TTA | Morocco | Marrakech | 2012 | N-A |
| Mar21 | 94,42 | 3,40 | TTA | Morocco | Marrakech | 2012 | N-A |
| Ma_201 | 85,26 | 3,52 | CAA | Morocco | Marrakech | 2016 | N-A |
| Ma_203 | 83,12 | 2,35 | CAA | Morocco | Marrakech | 2016 | N-A |
| Ma_205 | 85,89 | 3,26 | CAA | Morocco | Marrakech | 2016 | N-A |
| Ma_208 | 85,41 | 4,30 | CAA | Morocco | Marrakech | 2016 | N-A |
| Ma_209 | 82,03 | 1,86 | CAA | Morocco | Marrakech | 2016 | N-A |
| Ma_210 | 85,38 | 2,42 | CAA | Morocco | Marrakech | 2016 | N-A |
| Ma_214 | 83,02 | 1,22 | CAA | Morocco | Marrakech | 2016 | N-A |
| Ma_215 | 84,19 | 4,83 | CAA | Morocco | Marrakech | 2016 | N-A |
| Ma_216 | 85,38 | 5,85 | CAA | Morocco | Marrakech | 2016 | N-A |
| | | | | Morocco | Marrakech | 2017 | N-A |
| | | | | Morocco | Marrakech | 2018 | N-A |

Table S4: Frequency of non driving X chromosomes among those carrying Dp^{SR} in populations from Marrakech and Alexandria.

| Location | Year | Phenotype | | Genotype | | freq. Non driving X Dp^{SR} | Reference |
|-----------------------|------|-----------|--------------|----------|----------------|-------------------------------|---------------------|
| | | n X | n X^{SR} * | n X | n Dp^{SR} ** | | |
| Egypt (Alexandria) | 2007 | 49 | 3 | 16 | 3 | 0.00 | Bastide et al. 2013 |
| | 2012 | 61 | 38 | 21 | 12 | 0.00 | Bastide et al. 2013 |
| Maroc (Marrakech) | 2012 | 62 | 5 | 62 | 13 | 0.61 | this study |
| | 2016 | 30 | 5 | 30 | 10 | 0.50 | this study |

* X^{SR} are determined according to their driving ability (> 70% females)

** using the molecular test of Bastide et al (2013)

Table S4: List of the Y chromosomes used in the cytological study, together with their genotypes and SR phenotypes.

| Line | Haplotype | Sex ratio (% of females) | Std. Dev. | C.I. (5%) |
|-------|-----------|--------------------------|-----------|-----------|
| N1-7 | TTA | 93,08 | 3,97 | 3,48 |
| N1-12 | TTA | 91,53 | 3,77 | 3,30 |
| Al2 | TTA | 91,83 | 3,31 | 2,90 |
| Al4 | TTA | 95,70 | 1,56 | 1,37 |
| Al5 | TTA | 93,85 | 2,93 | 2,57 |
| Al6 | TTA | 92,63 | 2,87 | 2,52 |
| Al105 | CAA | 85,60 | 7,81 | 6,84 |
| Al110 | CAA | 86,24 | 5,13 | 4,50 |
| Al114 | CAA | 79,03 | 5,55 | 4,86 |
| Rf40 | CAA | 63,33 | 8,39 | 7,36 |
| Rf45 | CAA | 85,63 | 7,21 | 6,32 |
| T2 | CAA | 51,62 | 4,91 | 4,31 |
| T41 | CAA | 39,24 | 11,46 | 10,04 |
| Z6.35 | CAA | 84,14 | 2,57 | 2,26 |
| Z6.13 | CAA | 81,71 | 1,67 | 1,47 |
| Ki53 | CAA | 50,17 | 2,80 | 2,45 |
| Ki56 | CAA | 61,51 | 5,90 | 5,17 |
| BS1 | CAA | 77,61 | 14,98 | 13,13 |
| BS3 | CAA | 75,12 | 11,92 | 10,45 |
| BS5 | CAA | 60,10 | 10,23 | 8,97 |

Table S5: Number of hybridization signals observed with the four satellite probes on the Y chromosomes of TTA and CAA haplotypes in the different lines studied.

| Probes | Haplotype | number of sites on the short arm | number of sites on the long arm | Populations (lines) |
|---------|-----------|----------------------------------|---------------------------------|---|
| IGS | TTA | 0 | 2 | Tunisia 1983 (ST8) and 1999 (N1.7, N1.12) |
| | TTA | 0 | 2 | Egypt 2007 (AI2, AI4, AI5, AI6) |
| | CAA | 0 | 1 | Sao Tomé 1999 (BS1, BS3, BS5) |
| | CAA | 0 | 2 | Mayotte 2009 (Rf40, Rf45) |
| | CAA | 0 | 2 | Uganda 2003 (Ki53, Ki56) |
| | CAA | 0 | 3 | Egypt 2012 (AI105, AI110, AI114) |
| | CAA | 0 | 3 | Zimbabwe 1997 (Z6.13, Z6.35) |
| | CAA | 0 | 3 | Tanzania 1996 (T41) |
| | CAA | 0 | 4 | Tanzania 1996 (T2) |
| AAGAG | TTA | 1 | 2 | All TTA haplotypes |
| | CAA | 1 | 3 | Uganda 2003 (Ki53, Ki56) |
| | CAA | 1 | 2 | Other CAA haplotypes |
| AATAG | TTA | 1 | 1 | All TTA haplotypes |
| | CAA | 1 | 1 | All CAA haplotypes |
| AATAAAC | TTA | 0 | 1 | All TTA haplotypes |
| | CAA | 0 | 1 | All CAA haplotypes |

Table S6: Resistance and suppression test of the Kenyan line C167.4.

| Line | Conditions | number of replicates | Mean percentage of females in progeny | Std. dev. | Y chromosome haplotype | Country | Year | Commentary |
|--------|------------------|----------------------|---------------------------------------|-----------|------------------------|---------|------|---|
| C167.4 | Resistance test | 12 | 90,90 | 4,19 | TTA | Kenya | 1973 | Y from C167.4 and autosomes from ST8 versus X ^{SR} |
| C167.4 | Suppression test | 12 | 91,64 | 3,98 | TTA | Kenya | 1973 | Y and autosomes from C167.4 versus X ^{SR} |

Article 4

SR drive and the evolutionary history of the Y chromosome in *Drosophila simulans*.

Authors : Courret C.¹ , Ogereau D¹, Chang C.-H², Larracuenta A.² and Montchamp-Moreau C.¹

Affiliations:

¹ Évolution Génomes Comportement et Ecologie, CNRS, IRD, Univ. Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France.

²Department of Biology, University of Rochester, Rochester, New York, United States of America.

Abstract:

The evolutionary history of the Y chromosome in *Drosophila simulans*, a species of Afrotropical origin, is closely linked to that of X-linked meiotic drivers. Here we go further in the study of Y chromosome variation in this species, by taking advantage of the recent assembly of its Y chromosome. We sequenced 7 iso-Y lines, their Y chromosomes came from different locations in Africa. Among them, 3 lines carry a sensitive Y chromosome and 4 lines carry a Y chromosome which is able to resist the drivers. First, we confirm the very low nucleotide diversity among Y chromosomes in this species, which could be considered as a signature of recurrent genetic conflicts. While we identified an haplotype composed by 886 SNPs, with fixed differences between the 3 sensitives and the 4 resistant Y chromosomes. Secondly, the molecular polymorphism allows us to distinguish three distinct groups: the 3 sensitives Y chromosomes (93.7% of identity), the 3 resistant Y chromosome from Est Africa (94.45% of identity) and the resistant Y chromosome from Seychelles. The similarity between the 3 resistant Y chromosomes from African population suggest that they have a recent common ancestor, idem for the 3 sensitives Y chromosome. We also confirm the ancestry of the resistant lineage by examining Y-linked sequences in the sister species of *D. simulans*. Finally, we found that, the resistant Y chromosome from the Seychelles Island, seems to have a deferent evolutionary history from the resistant Y chromosomes from the African continent. We highlight the potential of this new approach to go further in the understanding of the evolutionary history of the Y chromosome.

Keys words: *Drosophila*, heterochromatin, Y chromosome, meiotic drive.

INTRODUCTION

In *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*, like in most *Drosophila* species the Y chromosome is entirely heterochromatic, composed of transposable elements and other repetitive sequences such as satellite DNA (Bachtrog 2013). In both species the Y chromosome represents 13% of the genome (around 40 Mb) but contains very few genes (Carvalho et al. 2015; Tobler et al 2017). Yet, despite its poor gene content, it is an essential component of the genome. In *Drosophila*, the Y chromosome has important male functions (Kennison 1981). Indeed, XO males are usually viable but sterile. Most of Y-linked genes are expressed during spermatogenesis and appear essential for male fertility (Carvalho et al 2009). It has been shown that the Y chromosome impacts male fitness (Chippindale et Rice 2001; Archer et al. 2017) but also has larger phenotypic effects (Rohmer 2004; Huttunen et Aspi 2003).

The phenotypic variations of the Y chromosome are in sharp contrast with its very low gene sequence variation (Zurovcova et Eanes 1999; Larracuenta et Clark 2013; Helleu et al. 2019). This poor genetic variation can be explained by multiple factors. First the Y chromosome has a male limited transmission, this strict inheritance favors the selection of male beneficial alleles and thus the accumulation of genes with male-related function (Bachtrog et al. 2013). Second, the Y chromosome has a reduced effective population size compared to the rest of the genome, one quarter on the one of the autosome. Finally, the Y chromosome does not recombine which causes natural selection on a Y-linked trait to affect the entire chromosome. Beneficial mutation can lead to the fixation of an entire Y chromosome into the population (Charlesworth et al 1987) but on the opposite deleterious mutations can lead to loss of the chromosome. Population genetics models thus suggest that neutral variations within population should be rarely maintained whereas inter-population differences can rapidly accumulate (Clark 1987). The Y chromosome appears particularly sensible to the demographic history of populations. For instance, the African populations of *D. melanogaster* show significantly less Y-linked variation than the Cosmopolitan populations, which could be explained by the demographic history of the species and a recent natural selection event in Africa (Larracuenta et Clark 2013). Several studies of the Y chromosome in *D. simulans* highlight a nucleotide diversity lower than the one of *D. melanogaster* (Zurovcova and Eanes 1999, Kopp et al. 2006).

The evolution of the Y chromosome can also be shaped by intragenomic conflict. X-linked meiotic driver (hereafter X_{SR}) induce a deviation from the Fisher 1:1 principal. Those *Sex Ratio* (SR) systems were largely described in the *Drosophila* genera, with 18 SR systems in 16 species (review in Courret et al. Chapitre 1). During spermatogenesis the X_{SR} prevents the formation of functional Y bearing sperm cell, resulting in a strong female bias in the progeny of carrier males. Thus, the effective size of the Y chromosome is drastically reduced in populations invaded by X_{SR}. Following the spread of the driver, natural selection strongly favors any variant that can counteract the effect of the driver, allowing to restore a balanced sex ratio (review in Helleu et al. 2015). Those suppressors are supposed to evolve at unlinked loci, i.e on autosomes or on the Y chromosome. Resistant Y chromosome have direct and strong selective advantage and thus are expected to quickly reach fixation (Clark 1987, Hall 2004, Unckless 2015, Helleu et al. 2019).

In the worldwide species *Drosophila simulans*, autosomal suppressors (Cazemajor et al 2000; Courret et al. 2019) and resistant Y chromosome have evolved in response to the spread of X linked-drivers known as the Paris system (Cazemajor et al. 2000). A recent study has been devoted on their impact on the evolution of the Y chromosome (Helleu et al. 2019). First they find a very low Y-linked gene sequence polymorphism, they sequenced 12.9 kb of gene fragment among nine Y chromosomes and only found 3 polymorphic sites (SNP) (π estimated to 0.000520). Those 3 SNPs defines 3 haplotypes (TTT, TTA and CAA). The genotyping of 379 additional Y chromosomes from 21 different locations, revealed that only one haplotype (CAA) is associated with the drive resistance. This haplotype appears fixed in Sub-Saharan Africa, where the Paris system likely emerged less than 500 years ago, before spreading (Fouvry et al. 2011). It then spread to islands of the Indian Ocean (Bastide et al. 2013). Drive suppression is complete over the whole area and the frequency of the X_{SR} has started to decrease in some location, like in Madagascar, Kenya or Mayotte (Bastide et al. 2013). Invasion of X_{SR} in North African population was observed during the last decade. Along with the rise of the X_{SR} on this area, sensitive Y chromosomes have been replaced by resistant ones within a few years (Helleu et al. 2019). As expected the fixation of resistant Y chromosomes occurred very quickly. In all population where the X_{SR} has emerged Y resistant chromosomes was fixed.

The resistance of Y chromosomes appears to be highly polymorphic at the inter and intra population level. Given the low level of Y-linked gene variation, it is more likely that the phenotypic variation is due to variation in repeated sequences and/or structural variation. In contrast to low gene sequence polymorphism extensive structural rearrangements, repeat content variation and gene duplication appears common in *D. melanogaster* and *D. simulans* Y chromosomes (Lyckegaard et Clark 1989; Balakireva et al. 1992; Aldrich et Maggert 2014; Tobler et al 2017; Brashear et al 2018; Chang et Larracuente 2019; Helleu et al. 2019). And Fluorescence *in situ* hybridization, using 4 satellites probes, has reveal many structural rearrangements among Y chromosomes of the CAA lineage (Helleu et al. 2019).

Thanks to the recent advance in long read sequencing, around one third of the Y chromosome of *D. melanogaster* and *D. simulans* (13 Mb out of 40), are now assembled. The present study takes advantage of those assemblies to further investigate the molecular variation of the Y chromosome in *D. simulans* in relation to the evolution of the Paris SR system. We sequenced 7 iso-Y lines (derived from a single male) from different locations in Africa, 3 from the sensitive TTA lineage and 4 from the resistant CAA lineage. We confirmed the very low nucleotide diversity among Y chromosomes and extend the fixed differences between the two lineages to 886 SNPs. All of sensitive Y chromosomes cluster together, the same for resistant Y chromosomes with one exception: the Y chromosome from Seychelles, which suggests an independent evolutionary history in Seychelles islands. The previous study highlighted that the sister species of *D. simulans*, *D. sechellia* and *D. mauritiana*, carries the same allele at the 3 first identified SNPs as the resistant Y chromosomes, suggesting the ancestry of resistance. Here we assess this ancestry. In addition to nucleotide polymorphism we also look at the simple satellite abundance variation among those Y chromosomes and found that the satellite abundance profile correlates with the SNP profile.

MATERIALS AND METHODS

Fly stocks.

The strains YST8, YAL110, YA14, YT2, YZ6.13, are iso-Y lines (derived from a single male). They have all the same genetic background (XST AST) from the *ST8* reference strain (Montchamp-Moreau and Cazemajor 2002), the dot fourth chromosome was not controlled. YST8 is from Tunisia (1983), YAL4 and YA1110 from Alexandria, Egypt (2008 and 2012, respectively), YT2 from Tanzania (1996) and YZ6.13 from Zimbabwe (1997). YST8 and YAL4 were previously characterized as sensitive Y chromosomes (TTA) (see Helleu et al 2019). YAL110, YT2 and YZ6.13 were previously characterized as resistant Y chromosomes (CAA) (see Helleu et al. 2019).

The SR strain was collected in Seychelles in 1981 and the C167.4 strain (from the Bloomington stock center) was collected in Kenya in 1975. For those strains the Y chromosome, was maintained in its original genetic background. The Y chromosome of SR strain was previously characterized as a resistant CAA Y chromosome, and the Y chromosome of C167.4 as a TTA sensitive one.

Sequencing.

DNA was extracted from 50 adults J1 males flies using the Nucleobond AXG20 column from Macherey-Nagel. For whole genome sequencing, libraries were prepared using the Illumina PCRfree kit and sequencing was done using Illumina HiSeq3000 technology with pair-end 150bp reads.

Alignment and Variant calling.

We constructed a home-made reference genome. Starting from the reference flybase genome of *D. simulans* (last release dsim_r2.02_FB2017804), we added the TT00 mtDNA (GenBank AF200833.1), the Y chromosome assembly from Amanda Larracuente's lab and sequence corresponding the junction region of DplSR (Hosim and rIST).

Adapter trimming and low quality reads were filtered using Trimmomatic (version 0.39), with the following parameters: ILLUMINACLIP:TruSeq3-PE.fa:2:30:10:2:keepBothReads LEADING:3 TRAILING:3 SLIDINGWINDOW:4:15 MINLEN:75.

Reads were mapped on this home-made reference genome with bwa 0.7.17 using the *BWA-MEM* algorithm. Resulting sam alignment files were converted in bam files and sorted using samtools. PCR duplicates were removed using *Markduplicates* from Picardtools. Mean coverage was determined using the *genomecov* tool of bedtools.

Variant calling was done using *mpileup* from bcftools (with -C50) and the *call* command of bcftools. Variant were then filtered using the *filter* command of bcftools (-e "MQ<40 | QUAL<40 | DP<70"). vcftools was used to isolate SNP on the Y chromosome, indels and missing data were removed and only bi-allelic site were kept (--remove-indels --min-alleles 2 --max-alleles 2).

Homozygote and heterozygote SNPs were separated using bcftools *filter* command (-e 'GT="het" ' or 'GT="hom"').

Identification of SNPs alleles in the sister species.

We built a bed file containing the position of each SNP composing the resistant haplotype using a custom R script. Using bcftools *consensus* and *getfasta* command we extract 250 bp sequences for each SNP in a fasta file. Those sequences were then subjected to blast using blastn (-evalue 1e-20 –qcov_hsp_perc 80 –perc_identity 85 –max_target_seqs 1 –outfmt 6) against the Y chromosome assembly of *D. melanogaster*, *D. sechellia* and *D. mauritiana*. The corresponding alleles were then extracted using a custom R script.

Kmer quantification.

The SR and C167.4 lines were not submitted to this analysis because their genetic backgrounds are different, which could bias their comparison with the other lines. Barring the forth chromosome (not controlled), only the Y chromosome differ we thus consider that variation observed between lines are due to the Y chromosome. Kmer quantification was done using kseek software directly on the fastq file. To normalize the Kmers counts between lines we divided the total count by the average coverage of the corresponding line and we multiplied by the length of kmers. This allowed us to estimate the nucleotide length for each kmer for 1 x coverage. Kmers with less than 20 nt length for at least 1 strain were eliminated from the analyses. The analyses were then done with R. In order to identify kmers for which there is an enrichment either for the resistant or sensitive Y chromosomes, we performed a t test between the two groups of Y chromosomes and extracted kmers with significant p.value (p.value <0.005).

RESULTS.

SNP variation among Y chromosomes.

Among the 7 iso-Y lines sequenced we identified 6888 polymorphic sites presumably located on the Y chromosome. Among them, 4056 were homozygote and 2832 appeared as heterozygote. Because each Y-line sequenced originated from a single male and the Y chromosome is supposed to be haploid, heterozygote sites were likely due to duplicated sequences and thus difficult to take into account. Thus, analyses were performed by only considering the homozygote SNPs. The distribution of those SNPs was not homogenous among the 21 scaffolds identified so far on the Y chromosome. Indeed only 17 of them were found polymorphic (Sup. Figure 1). Furthermore, those 17 scaffolds widely differ in SNP density: the nucleotide diversity varies between $\pi=0.000527$ to $\pi=0.00211$ depending on the scaffold (Sup. Figure 1, Sup. Table 1). This could be due to their composition as high density in repetitive elements such as simple satellite makes the detection of polymorphic sites difficult. Taking into account the 21 scaffolds (including those without identified SNPs) the global nucleotide diversity is very low: $\pi=0.000112$.

About half of the nucleotide variants, 2104 of the 4056 SNPs, are specific to the resistant Y chromosome from Seychelles (Table 3.2.1). If we exclude this chromosome from the analysis, the nucleotide diversity is drastically reduced: $\pi=7.242e-05$. The 6 other Y chromosomes show between 1.1 % and 2.1% of exclusive variable sites, with 94,45% of identity between 3 resistant African Y chromosomes and 93.6% of identity between 3 sensitive Y chromosomes. Only 225 and 259 SNPs differentiate the resistant and sensitive Y chromosomes respectively (Table 3.2.1).

Most of the 4056 SNPs localized in intergenic region. 1765 localized in genes and 131 in exons. This is not surprising as the Y chromosome is very poor in genes and most of them have very large introns.

| | SR | T2 | Z6.13 | Al110 | Al4 | C167.4 | ST8 | African Resistant | Sensitive | All Resistant |
|--------|------|-----|-------|-------|-----|--------|-----|-------------------|-----------|---------------|
| N° SNP | 2104 | 77 | 60 | 84 | 85 | 99 | 46 | 3831 | 3797 | 885 |
| % SNPs | 51.9 | 1.9 | 1.5 | 2.1 | 2.1 | 2.4 | 1.1 | 94.45 | 93.6 | 21.81 |

Table 3.2.1 : Number of SNPs specific to each Y chromosomes.

Y resistant chromosomes in Africa share a recent common ancestor.

We then performed a principal component analysis (PCA) on the 4056 SNPs to examine the population structure. The 7 Y chromosomes segregate in three distinct groups (Figure 3.2.1). Sensitive Y chromosomes from continental Africa (YA14, YC1674, YST8) clustered, and the same for the resistant Y chromosomes from Africa (YA1110, YT2, YZ6.13). The resistant chromosome from Seychelles island (YSR) is well apart from all the others, which was expected given the high number of SNPs specific to it. The first axe (58.34%) separates the 6 African chromosomes from the one from Seychelles, so according to the geographical locations. The second axe (32.36%) separates the Y chromosomes according to their phenotype (resistant versus sensitive) whatever their geographic origin and the collection time. For instance, while the sensitive YA14 and the resistant YA1110 come from the same location in Alexandria (2004 and 2012 respectively) they do not cluster together but according to their phenotype. This suggest that all the African resistant Y chromosome examined share a recent common ancestor, idem for the sensitive Y chromosomes.

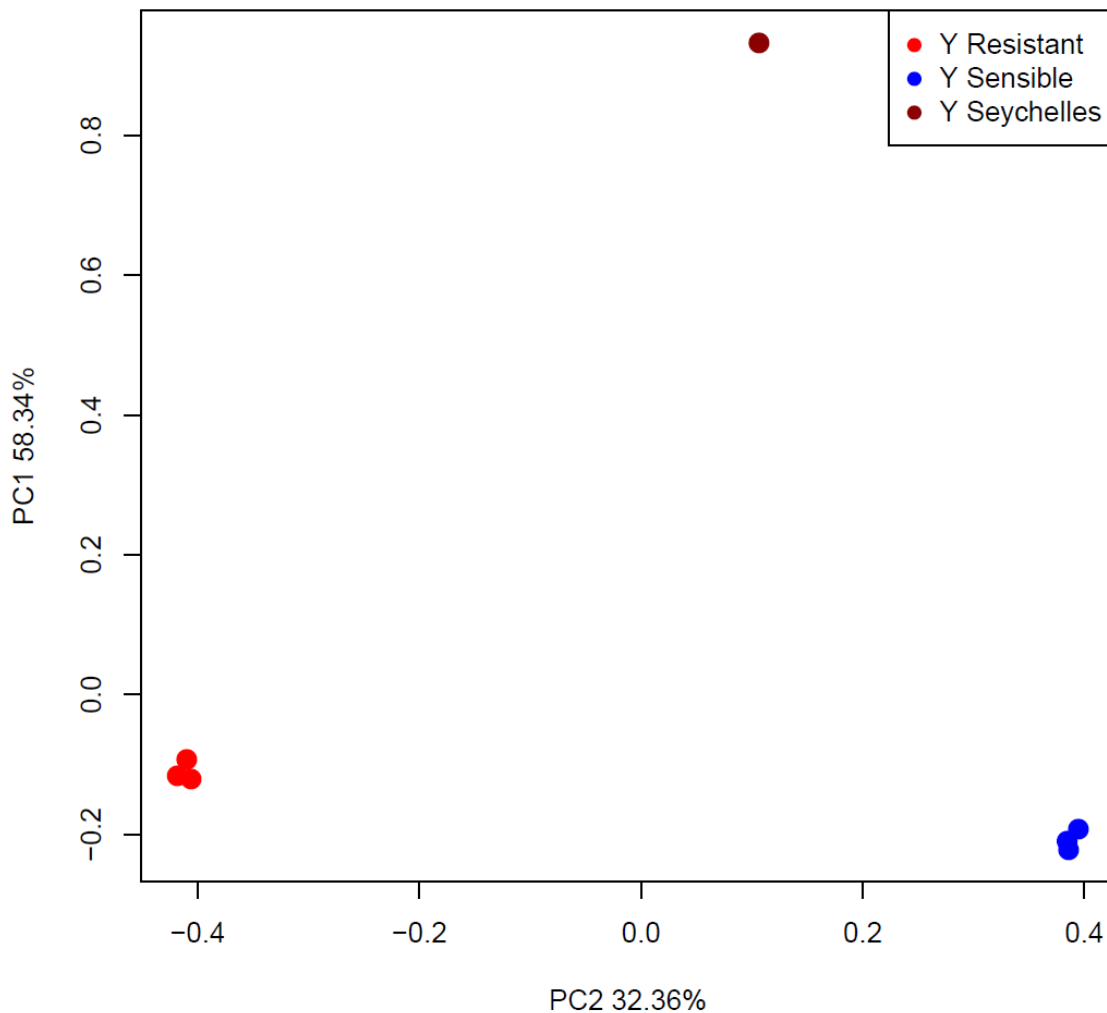


Figure 3.2.1 : Principal component analyses based on SNPs content). The PCA was plotted based on the first two principal components

Ancestry of the resistant lineage.

A previous work suggest that the resistance was the ancestral character (Helleu et al. 2019), because the sister species of *D. simulans*, *D. mauritiana* and *D. sechellia* carries the CAA haplotype which is associated to the resistance in *D. simulans*. We reexamined this hypothesis in the light of the new SNP data. We considered the sites at which all 4 Y resistant chromosomes (including the one from Seychelles) carried the same allele and the 3 Y sensitive chromosomes carried an alternative allele. This allowed us to define an haplotype associated to the resistant Ys, hereafter the resistant haplotype, composed by 885 SNPs (Table 3.2.1). The localization of those SNPs appears homogenous, no particular enrichment in a specific scaffold (Sup. Figure 1).

For each SNP we looked for the allele carried by the sister species *D. sechellia* and *D. mauritiana*, endemic from Seychelles and Maurice islands, respectively, and by *D. melanogaster*. Among the 885 SNPs we identified 686 homologous sites for both *D. sechellia* and *D. mauritiana*, 89,35 % and 90,09% of them carried the allele associated with the resistant lineage (Table 3.2.2). On the Y chromosome of *D. melanogaster*, we recovered only 448 sites among the 885. However 87.96% of those sites also carry the nucleotide associated to the resistance. This result clearly assesses the ancestry of the resistant Y chromosome lineage.

| | D. sechellia | D.mauritiana | D. melanogaster | D. sech & D. Maur |
|--------------------|--------------|--------------|-----------------|-------------------|
| N° SNP recover | 686 | 686 | 448 | 631 |
| resistant allele | 613 (89.35%) | 618 (90.09%) | 379 (84.6%) | 555 (87.96%) |
| sensitive allele | 32 | 35 | 28 | 28 |
| alternative allele | 41 | 33 | 41 | - |

Table 3.2.2 : Identification of the alleles of SNP within the resistant haplotype in *D. sechellia*, *D. mauritiana* and *D. melanogaster*.

Kmers content correlate with the phenotype.

The Y chromosome is mainly composed by repetitive sequence such as transposable elements, complex and simple satellites DNA. As the resistance is highly variable, it is very likely that the resistance ability is linked to variation at one or several of these repetitive sequences. Among the 7 Y lines sequenced in which only the Y chromosome (and possibly the fourth chromosome) varied, we could associate any variation in copy number between strains to variation on the Y chromosome. We excluded the SR and C167.4 strains from this analyses as they were not in the same genetic background (ST8) as the other Y chromosomes.

We looked at simple satellite DNA composition between the 5 Y chromosomes. We used the kseek software (Wei et al. 2014) to identify and quantify all simple satellite DNAs in our genomes. The most abundant kmer identified was indeed known to be highly enriched in *D. simulans* (Supplemental

Figure 3.2.2). The second most abundant kmer, AACAGAAGATGTTTCG, was known to be specific to *D. simulans* and *D. sechellia*. Among the 10 most abundant, one (AAACAAC) was known to be linked to the Y chromosome and two were even specific to the Y chromosome (AAACAAT and AATAGT).

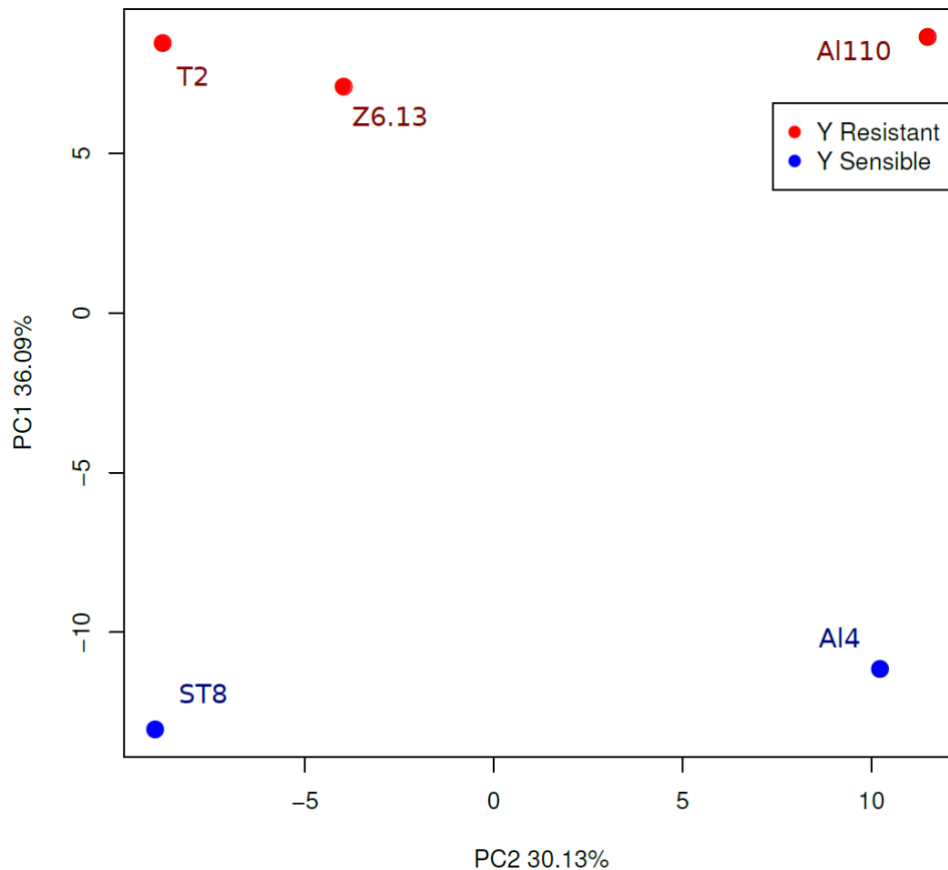


Figure 3.2.2 : *Principal component analyses based on the top 100 kmers content. The PCA was plotted based on the first two principal components.*

We made a PCA on the top 100 kmers to see if their content correlates with the phenotype or the location. The first axis (36.09%) separate the 5 Y chromosomes according to their phenotype, like for the SNPs (Figure 3.2.1). This strongly supported the hypothesis of distinct lineage. However the second axis (30.13%) bring the two Y chromosomes from the same location. A14 is a sensitive Y chromosome while A1110 is a resistant Y chromosome, but they were both collected in Alexandria in 2008 and 2012 respectively, this could be due to the fourth chromosome which is also mainly composed by repeat sequences. While the fourth chromosome seems to impact the analyses, the major part of variation observed came from the Y chromosomes

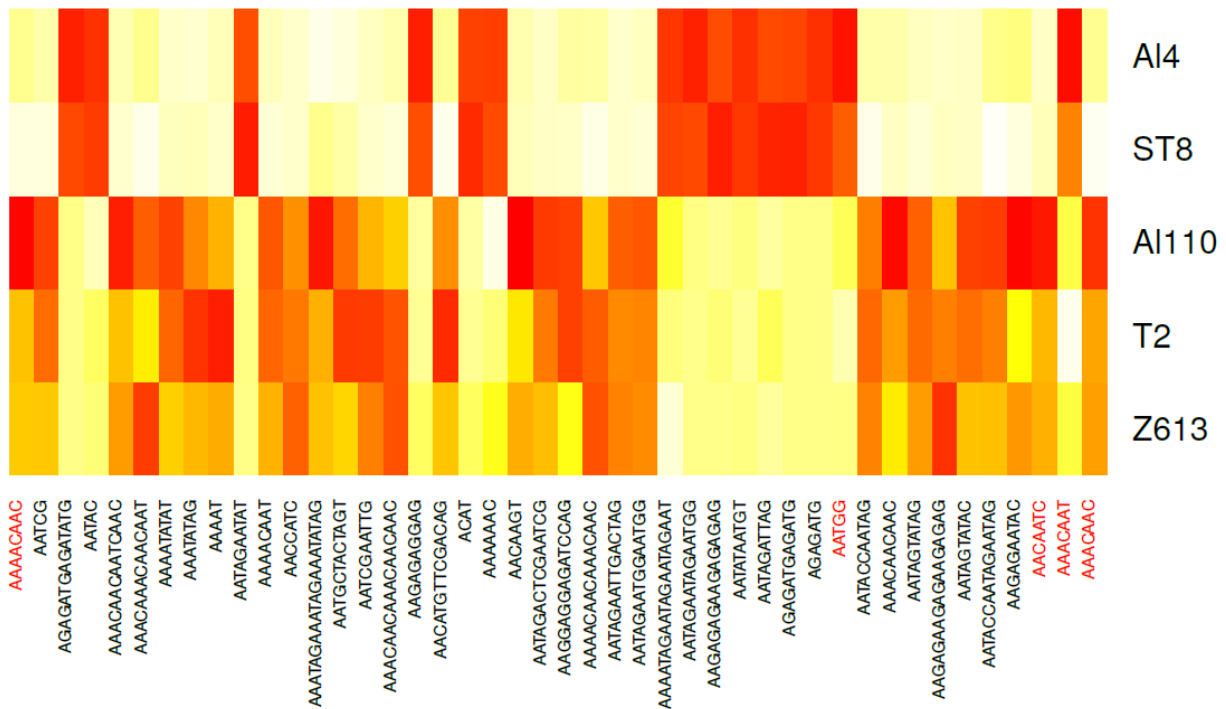


Figure 3.2.3 : Heatmap of the kmers differentially enrich between Resistant and Sensible Y chromosome. Kmers highlight in red are linked to the Y chromosome of *D. simulans*

We identified 43 kmers for which the abundance was significantly varied between the 3 resistant chromosomes and the two sensitive Y chromosomes (Figure 3.2.3, Table 3.2.3). Among them 20 kmers were enriched on the resistant Y chromosomes, and 8 kmers were only find on resistant Y chromosomes (Table 3.2.3). On the opposite 9 kmers were enriched among sensitive Y chromosome and 6 kmers were specific to sensitive Y chromosomes (Table 3.2.3). Among the most variable kmers, AAACAAC, AACAATC, AAAACAAC, AAACAAT and AATGG, were known to be specifically linked to the Y chromosome of *D. simulans*. Surprisingly we identified one kmer enriched on sensitive Y chromosomes, AATAC, which has been reported to be specific to the Y chromosome of *D. sechellia* but absent from *D. simulans* genome (Wei et al. 2018). Finally, most of the kmers we identified here were described for the first time.

| Enriched on Res Y | Enriched on Sen Y | Res specific | Sen specific |
|---|---|---|--|
| <p>AAACAAC; AACAATC; AAAACAAC; AATCG; AAACAACAAC; AATACCAATAG; AATAGTATAG; AAGAGAATAC; AATACCAATAGAATAG; AAACAACAACAACAT; AAACAACAATCAAC; AAAAT; AAATATAG; AAAATATAT; AAATAGAAATAGAATATAG; AATGCTACTAGT; AATCGAATTG; AAACAACAACAACAAC; AATAGAATTGGAATGG; AAAACAACAACAACAAC;</p> | <p>AAACAAT; AATGG; AATAC; AATAGAATAGAATGG; AAAATAGAATAGAATAGAAT; AATATAATGT; AATAGATTAG; AAAAAAC; ACAT</p> | <p>AAGAGAAGAGAAGAGAG; AATAGTATAC; AACCATC; AAAACAAT; AATAGAATTGACTAG; AAGGAGGAGATCCAG; AATAGACTCGAATCG; AACAAGT</p> | <p>AGAGATGAGATATG; AATAGAATAT; AAGAGAGAAGAGAGAG; AGAGATG; AGAGATGAGATG; AAGAGAGGAG</p> |

Table 3.2.3 : List of kmers differentially enriched on resistant and sensitive Y chromosomes. Kmers were ordered according to their abundance. Kmers highlighted in red are known to be linked to the Y chromosome of *D. simulans*, kmers in red and underlined were only found on the Y chromosome of *D. simulans*. The one underlined is supposed to be only found in *D. sechellia* Y chromosome.

DISCUSSION

By looking at nucleotide diversity and simple repeat content we retrace the evolutionary history of the Y chromosome in *Drosophila simulans* related to the Paris SR system. We distinguish three distinct lineages: the sensitive lineage, the African resistant lineage and the Seychelles lineage. We identified the 885 nucleotide differences fixed between sensitive and resistant Y chromosomes. Finally, we confirm the ancestry of the resistant lineage, the Y chromosome of the 3 sister species of *D. simulans*, are much closer to the resistant Y chromosomes (African resistant and Seychelles lineages), with around 90% of identity.

The nucleotide diversity on the Y chromosome of *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans* is very low compared to the rest of the genome (Larracuente and Clark 2013, Helleu et al. 2019). However the nucleotide diversity of the Y chromosome of *Drosophila simulans* measured here is about five fold lower than previous estimate (π was estimated to 0.000520 in Helleu et al. 2019, here $\pi = 0.000112$). The previous estimate was done on gene-sequence (a total of 1720 sites were used), which limit the estimation to a small portion of the Y chromosome, with our approach we take account of the whole chromosome (around 13Mb).

While the level of nucleotide variation among the Y chromosomes examined here is very low, it reveals a clear pattern. Apart from the case of the Y chromosome from Seychelles, the molecular polymorphisms do not segregate Y chromosomes according to their geographic origin but to their phenotype. The 3 sensitive Y chromosomes appears almost identical. In the same manner the resistant Y chromosomes appears highly similar. The two Y chromosomes from Alexandria, A14 and A1110, comes from males collected five years apart, in 2008 and 2012 respectively. In 2008 the driver was not present in this population and the local Y chromosomes, including A14, were sensitive. Five years later, due to the spread of the SR drivers, they were replaced by resistant Y chromosomes, including A1110. Here we show that A1110 is about ten folds more similar to the resistant Y chromosomes from Zimbabwe and Tanzania (T2 and Z6.13) than to A14. In addition, the 3 resistant Y chromosomes from the African continent are almost identical, supporting the hypothesis of a recent and unique origin of the resistance in this area. This clearly proved that the resistant Y chromosomes do not emerge locally in response to the spread of the drivers, but more likely spread along with them.

The similarity between sensitive Y chromosomes was more surprising. In contrast to the resistant Y chromosomes they have not been submitted to recent and strong positive selection by the young Paris SR drivers. Thus a higher level of nucleotide variation might have been expected among sensitive Y chromosomes. Their low level of nucleotide diversity suggests a recent common ancestor for the sensitive Y chromosomes as well, which can make sense given that they belong to a derived lineage.

On the opposite, considering the resistant lineage as the ancestral lineage we should observed more nucleotide variation among the resistant lineage in Africa. It is more likely that prior the emergence of the Paris system, resistant Y chromosome have undergone a drastic reduction of their effective population size, being replaced by the sensitive lineage. Indeed, resistant Y chromosomes were mainly find in African populations related to the Paris SR system. The Y chromosome which has

spread out-of-Africa is the sensitive Y chromosome, which is certainly the major Y chromosome in the whole repartition area of the species. This hypothesis is supported by the Kenyan population. The C167.4 line was collected in Kenya certainly prior the invasion of the Paris SR system, in 1975. The Y chromosome of the C167.4 line appears similar to the other sensitive Y chromosome find later in other location (ST8 and A14). It suggests that prior to the emergence of the Paris drivers even in Africa, the major Y chromosome was the sensitive one, it has then been recently replaced by the resistant one due to the spread of the Paris system.

Thus the low nucleotide polymorphism of the African resistant lineage observed here can be due to two factors. First the spread of the sensitive lineage may have drastically reduce the effective population size of the resistant lineage in Africa, thus reducing its nucleotide diversity. Second the nucleotide diversity of the African resistant lineage was low prior the spread of the sensitive lineage, and was due to ancient selective sweep or bottlenecks. Expand our study to other locations would be interesting to see if the low nucleotide polymorphism is restricted to the East African population or if it is general to all the resistant lineage.

As mentioned, among the 4 resistant Y chromosome there is one exception, the SR line from Seychelles. Among the 4056 SNPs most are specific to the Y chromosome from Seychelles (2104 SNP are polymorphic only for the Y_{SR} chromosome) (Table 3.2.1). This highlight an important divergence between the Continental African populations and the Seychelles population. Even if Y_{SR} belong phenotypically to the group of resistant Y chromosomes it is genetically very different from the Y resistant chromosomes from the African continent (Figure 3.2.1). This suggest an independent evolutionary history of the Y's in the Seychelles islands. Indeed *D. simulans*, is thought to originate from Madagascar, and to have spread Out-of-Africa in a recent past (~ 10 000 ya) (Lachaise et al. 1986). It has been hypothesized that the colonization of Seychelles islands and the African continent occurs independently. The specificity of the Y chromosome of Seychelles remind the one of the mitochondrial (mt) haplotype. In *Drosophila simulans* there are three different mt haplotype : *siI*, *siII* and *siIII* (Solignac et Monnerot 1986). *siIII* is the worldwide haplotype of the species, *siII* is specific the Madagascar population and the last haplotype, *siI*, is specific to the Indo-Pacific islands (Seychelles, New Caledonia and Hawaii). The parallel between the Y chromosome and the mitochondrial genome support the hypothesis of an independent evolutionary history in Seychelles. We can wonder what happens about the Y chromosome in Madagascar? The fact that the Seychelles lineage has kept is resistance ability, raises the question of the ancestry of the phenotype. Are the Y chromosomes of *D. sechellia* and *D. mauritiana* able to resist to the Paris driver? A previews work suggested that the Y chromosome of *D. sechellia* is resistant (Tao et al. 2007b).

However it is important to keep in mind that the Y chromosome from Seychelles (Y_{SR}) was not sequenced in the same genetic background as the other Y resistant chromosomes. We cannot exclude that this induce a bias, artificially increasing the polymorphism on the Y chromosome. Y C167.4 was also sequenced in its original genetic background, but we do not observe the same pattern as for Y_{SR} , suggesting that what we observed are not just artefact. There are two possibilities. First polymorphisms are indeed Y-linked and specific to the Y_{SR} . Second those polymorphisms do not

correspond to SNP but reflect structural variation on the Y chromosome. As example, considering a polymorphism identified on a repeat sequences which is also present on autosome, reads mapping to this sequence can correspond to both locations. If there is a polymorphism between the autosomal copy and the Y-linked copy, in our analyses we should find an heterozygote site (which were excluded). However if this sequence is absent on the SR Y chromosome read corresponding to the autosomal copy will still map to the Y chromosome assembly. Thus we can observe a polymorphism which is in fact link to the autosome. While this is not a Y-linked SNP, its reflect a Y-linked structural variant specific to the SR strain. In both cases this highlight high level of divergence of the Seychelles population compared to the African populations.

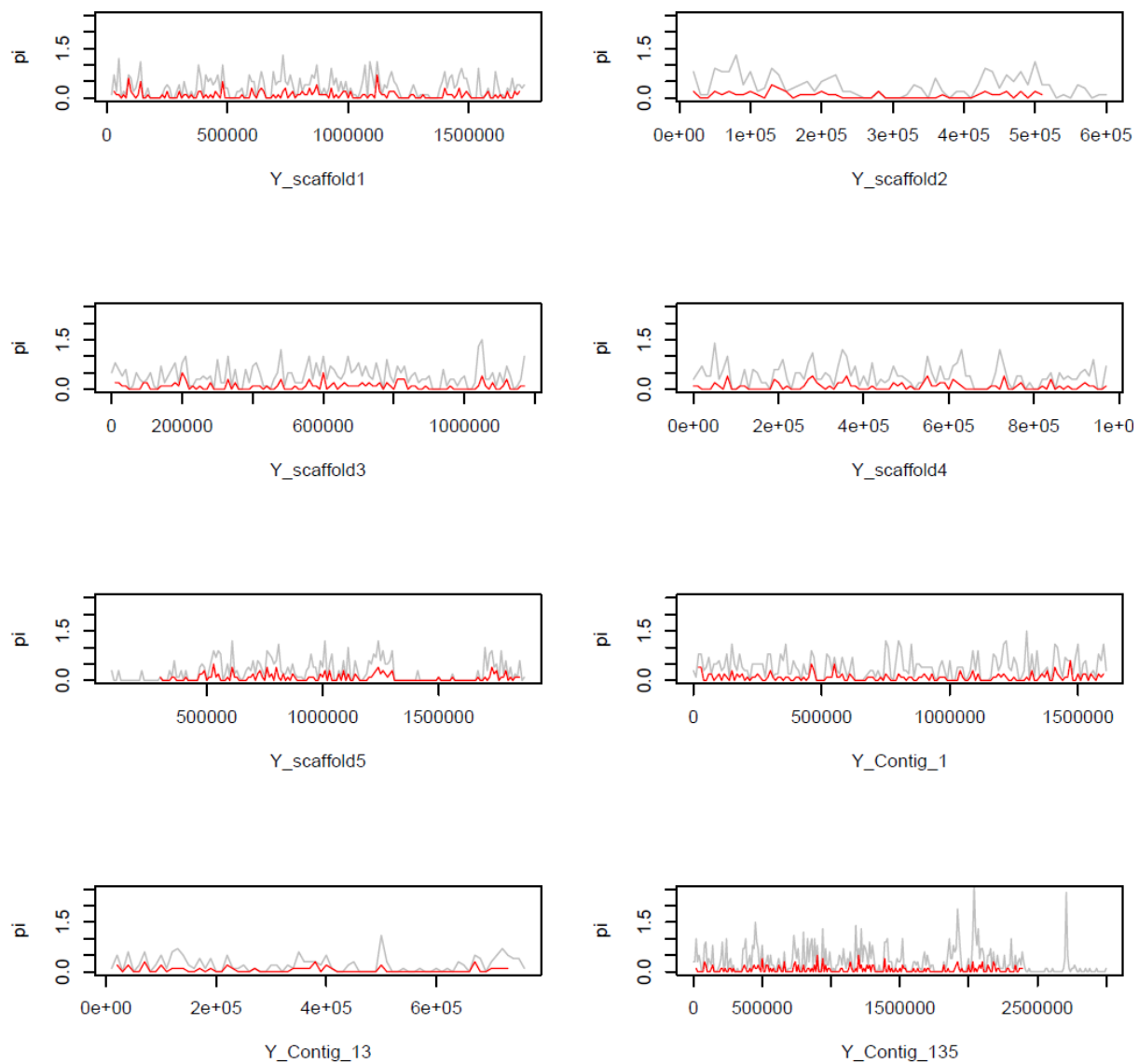
In this study, in addition to molecular polymorphism we look at the abundance of simple repeats between the 5 Y chromosomes, which had been isolated in a similar genetic background. It appears that simple repeats variations shows a similar pattern as nucleotide polymorphism, it distinguish Y chromosome according to their phenotype and not their location. As simple repeats are supposed to evolved faster than nucleotide polymorphism, this reinforce the hypothesis of a recent past history. However, the simple repeats abundance seems to highlight some similarity between the two Y chromosomes from Alexandrie (AI4 and AI10). The similarity observed can be due to chromosome 4, which was not controlled during the procedure of chromosome replacement. Like the Y chromosome, the chromosome 4 is also mainly made up of repeat sequences, and thus could have a strong impact on simple repeat abundance estimation.

The three resistant Y chromosome studied here have different resistance ability (Helleu et al. 2019). This phenotypic variation can have non-genetic origin such as epigenetics marks, which could vary between chromosomes. We have identified multiple simple repeats differently enriched between resistant and sensitive Y chromosomes and known to localize on or even be specific to the Y chromosome. Those repeats will deserve further attention to examine whether some of them are involved in drive resistance. As example the SD system in *D. melanogaster*, *Rsp* satellite is the target of the driver. Variation in *Rsp* copy number is related to variation in the sensitivity to the driver. Similarly, particular repeats may be involved in the resistance to the Paris drivers and possibly be their target. Resistance variation can be due to abundance variation but also to variation in their localization. Considering that the distortion is due to a misregulation of heterochromatic sequence, the localization of those sequences among the Y chromosome can be more or less critical for chromosome segregation. If so, ChIPseq experiments should allow identifying them.

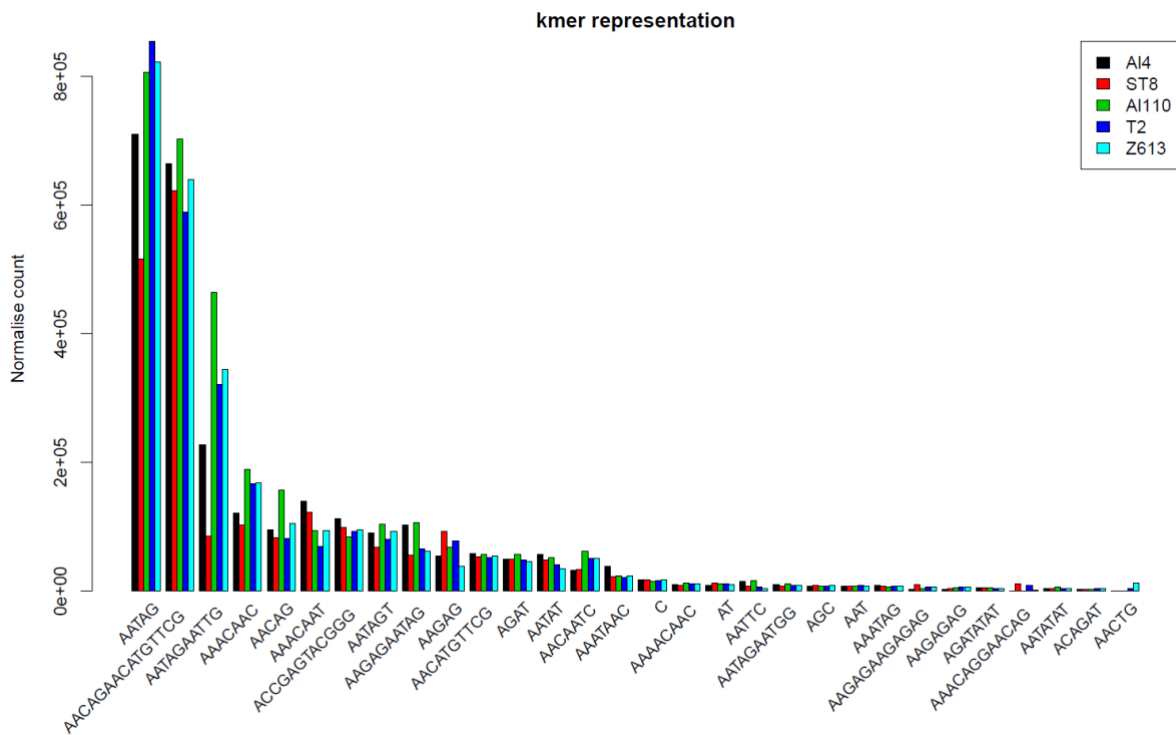
The Paris system is particularly young, at least in its present form, since the segmental duplication which is involved in drive emerged less than 500 years ago (Bastide et al. 2013). While it is clear that it has a strong impact on the recent evolutionary history of the Y chromosome. It likely cannot explain by its own the whole pattern of variation. While we tested a limited number of Y chromosome, we hypothesis that the spread of the sensitive lineage has likely occurred before the emergence of the Paris SR system. It is more likely that the Y chromosome was recurrently involved in genetic conflict leading to multiple selective sweeps on the Y chromosome. In addition to the Paris SR system, two

other and older cryptic SR system were identified in *D. simulans* (Tao et al. 2001, Tao et al. 2007a). It could be interesting to extend this approaches to other populations around the world to see if we observed the same pattern, which could then be considered has a signature of recurrent genetic conflict in which the Y chromosome is a central actor. Known which Y chromosome haplotype spread out of Africa should help us to understand the evolutionary history of the Y chromosome and thus the one of the species.

SUPPLEMENTAL



Supplemental Figure 1: Nucleotide diversity density along each scaffold of the Y chromosome. The grey line represents the density for all SNP, the red line represents the density for SNP composing the resistant haplotype.



Supplemental Figure 2: Representation of the 30 most abundant kmers.

| Scf | mean pi |
|--------------|----------|
| Y_scaffold1 | 0.000911 |
| Y_scaffold2 | 0.000843 |
| Y_scaffold3 | 0.000919 |
| Y_scaffold4 | 0.000879 |
| Y_scaffold5 | 0.000978 |
| Y_Contig_1 | 0.000920 |
| Y_Contig_11 | 0.000933 |
| Y_Contig_13 | 0.000860 |
| Y_Contig_16 | 0.000791 |
| Y_Contig_28 | 0.000879 |
| Y_Contig_36 | 0.000844 |
| Y_Contig_37 | 0.00211 |
| Y_Contig_92 | 0.000527 |
| Y_Contig_100 | 0.000923 |
| Y_Contig_126 | 0.000885 |
| Y_Contig_135 | 0.000918 |
| Y_Contig_141 | 0.000527 |

Supplemental Table 1: Mean nucleotide diversity per Scaffold. Only the 17 scaffolds with SNP are presented.

Chapitre 4

La distorsion

Chapitre 4 : La distorsion

Ce dernier chapitre traite de la distorsion. Pour rappel, la distorsion du système Paris est causée par deux éléments distorceurs situés sur le chromosome X. Le premier est localisé dans une duplication en tandem, contenant 6 gènes et plusieurs copies d'un élément transposable. Le deuxième a été identifié comme étant une perte de fonction du gène *HP1D2*. *HP1D2* code une protéine qui fait partie de la famille des protéines HP1, impliquées dans la régulation de l'hétérochromatine. Une étude cytologique a révélé que *HP1D2* est exprimé dans les spermatogonies. Chez des mâles non distorceurs, la forme standard et la forme distortrice de *HP1D2*, produites par des transgènes *P{HP1D2^{SR/ST}::GFP}*, étaient enrichies au niveau du chromosome Y. Cette observation a permis de proposer que *HP1D2* était impliquée dans la préparation de l'hétérochromatine du chromosome Y pour la méiose et que la protéine tronquée *HP1D2^{SR}* avait perdu cette capacité.

Afin de mieux comprendre le rôle de *HP1D2*, j'ai étudié la localisation cytologique des deux formes, ST et SR, dans différents contextes génétiques. L'étude précédente menée par Helleu et al. (2016) montre un enrichissement sur le chromosome Y de la protéine tronquée *HP1D2^{SR}::GFP* chez des mâles porteurs d'un *XST*, et donc porteur également d'un allèle endogène *HP1D2st*. Nous soupçonnions que la localisation observée était en réalité due à la formation d'hétérodimères entre la protéine codée par le transgène et la protéine endogène, caractéristique commune chez les HP1. Afin de vérifier cette hypothèse, j'ai étudié la localisation de la protéine *HP1D2^{SR}::GFP* chez des mâles porteurs d'un *X^{SR}* et donc d'un allèle endogène *HP1D2^{sr}*. Dans ce cas, où la seule version de *HP1D2* présente est sa forme SR, il est apparu que *HP1D2^{SR}::GFP* ne co-localise pas avec le chromosome Y. Ceci suggère que c'est l'absence de *HP1D2* sur le chromosome Y qui le rend vulnérable à la distorsion. En effet la seule absence de *HP1D2* sur le chromosome Y n'est pas suffisante pour entraîner la distorsion. La distorsion a lieu uniquement lorsque la duplication est présente mais que *HP1D2* ne localise pas sur le chromosome Y. Ceci suggère que la forme fonctionnelle de *HP1D2* qui se fixe au chromosome Y le protège de la distorsion. Selon un tel modèle, les allèles SR de *HP1D2* produiraient une protéine moins efficace pour se fixer au chromosome Y et/ou produire une protéine en moindre quantité.

J'ai également étudié la localisation de *HP1D2* chez des mâles porteurs d'un chromosome Y sensible ou résistant. Chez des mâles portant un chromosome *XST*, *HP1D2ST::GFP* se lie efficacement au chromosome Y sensible et au chromosome Y résistant. Tandis que chez des mâles portant un chromosome *X^{SR}*, *HP1D2^{SR}::GFP* ne se lie ni un chromosome Y sensible, ni un chromosome Y résistant. Nous pouvons faire l'hypothèse que les Y résistants aient moins besoin de *HP1D2* que des Y sensibles. Cela pourrait s'expliquer par des variations du nombre de copies d'un élément répété reconnu directement ou non par *HP1D2*, ou de la position des séquences cibles, qui ne peuvent être détectées avec l'approche utilisée ici.

Ces observations nous ont permis de repenser les modèles moléculaires impliqués dans la distorsion.

Il apparait que HP1D2 n'est pas nécessaire au chromosome Y, d'autant plus au chromosome Y résistant. De plus dans le chapitre 3 nous avons vu que le chromosome Y résistant était ancestral. HP1D2 était potentiellement en cours de pseudogénéisation lorsque la duplication est apparue. C'est alors que la forme fonctionnelle de HP1D2 est devenue nécessaire pour protéger le chromosome Y de l'élément distorateur localisé dans la duplication. Connaître les cibles de HP1D2 sur le chromosome Y nous permettrait de mieux comprendre son rôle.

Les résultats présentés ici font partie d'un projet plus large impliquant l'identification des séquences cibles de HP1D2 par Cut and Run.

MATERIEL ET METHODES***Lignées utilisées.***

Les deux lignées transgéniques portant respectivement les transgènes $P\{HP1D2_{SR}::GFP\}$ et $P\{HP1D2_{ST}::GFP\}$ en position autosomale dans un contexte génétique ST8 ont été décrit dans Helleu et al. 2016. La lignée ST8 est notre lignée standard de référence, elle ne porte ni distorateur ni supprimeur (Montchamp-Moreau et Cazemajor 2002). Le chromosome portant le transgène a été introduit dans différent contexte génétique par croisement :

- Chez des mâles portant un chromosome X_{ST8} et un chromosome sensible Y_{ST8} : $X_{ST8}P\{HP1D2_{ST}::GFP\} Y_{ST8}$; $X_{ST8}P\{HP1D2_{SR}::GFP\} Y_{ST8}$.
- Chez les mâles portant un chromosome X_{SR} (Helleu et al. 2016) and un Y sensible Y_{ST8} : $X_{SR}P\{HP1D2_{ST}::GFP\} Y_{ST8}$; $X_{SR}P\{HP1D2_{SR}::GFP\} Y_{ST8}$.

Le transgène $P\{HP1D2_{ST}::GFP\}$ a également été introduit chez des mâles portant un chromosome X_{ST8} standard et un chromosome Y_{T2} résistant collecté en Tanzanie (Helleu et al. 2019) : $X_{ST8}P\{HP1D2_{ST}::GFP\} Y_{T2}$.

Le transgène $P\{HP1D2_{SR}::GFP\}$ a également été introduit chez des mâles portant un chromosome X_{SR} distorateur ou un chromosome recombinant X_{rec} (Helleu et al. 2016) et un chromosome Y_{T2} résistant collecté en Tanzanie (Helleu et al. 2019) : $X_{SR}P\{HP1D2_{SR}::GFP\} Y_{T2}$; $X_{rec}P\{HP1D2_{SR}::GFP\} Y_{T2}$. Le chromosome X_{rec} porte l'allèle SR de *HP1D2* mais pas la duplication.

Les mâles de la lignée *ST8* ont été utilisés comme contrôle négatif.

Immuno-marquage

Les testicules sont disséqués dans du PBS 1X- Triton 0.15% (PBT) et fixés dans du PBS 1X – 4% formaldéhyde pendant 20 min à température ambiante. Ils sont ensuite lavés 3 fois dans du PBT pendant 10 min avant d'être incubés sur la nuit à 4°C avec les anticorps primaires dilués dans du PBT. Après 3 lavages dans du PBT, ils sont incubés 3h à température ambiante avec les anticorps secondaires dilués dans du PBT. Ils sont lavés 3 fois pendant 20 min avec du PBT et montés sur lame dans un milieu de montage (Dako) contenant du DAPI.

Les anticorps primaires utilisés sont : un "mouse anti-GFP" (1:200) et un "rabbit anti-D1" (1:1000, don du laboratoire d'Harmit Malik). Les anticorps secondaires utilisés sont : un "goat 488 anti-mouse" (1:1000, Dylight thermoscientific, ref 35502) et un "550 Dylight-conjugated anti-rabbit" (1/1000, Thermo scientific, ref 84541).

Les images ont été prise avec un microscope confocal LSM-800 (Carl Zeiss).

RESULTATS

La distorsion dans le système Paris est associée à une localisation anormale de HP1D2.

Comme précédemment observé chez les mâles porteurs d'un chromosome X_{ST} (avec un *HP1D2_{ST}* endogène), les protéines HP1D2_{ST}::GFP et HP1D2_{SR}::GFP codés par les transgènes se lient au chromosome Y (Figure 4.1a-b). Chez les mâles porteurs d'un chromosome X_{SR} (portant la duplication *Dps_{SR}* et *HP1D2_{SR}* endogène), HP1D2_{ST}::GFP se lie également au chromosome Y (Figure 4.1c). Ceci concorde avec le phénotype observé dans Helleu et al. (2016) (Figure 2D). L'introduction d'un transgène d'une copie fonctionnelle de *HP1D2* chez des mâles porteur d'un chromosome X_{SR} permet de restaurer un sexe ratio équilibré. En revanche, chez les mâles porteurs d'un chromosome X_{SR} la localisation de HP1D2_{SR}::GFP est différente (Figure 4.1d). La protéine est bien exprimée dans les spermatogonies mais est diffuse à travers la cellule. La forme distortrice de HP1D2 n'est donc pas capable de se lier au chromosome Y; la protéine tagguée est exprimée mais sa localisation est diffuse dans les spermatogonies.

En présence d'un X_{ST}, HP1D2_{SR}::GFP est observé sur le chromosome Y (Figure 4.1b, Helleu et al. 2016 Figure 3). Il y a deux explications possibles à ces observations.

Hypothèse 1 : HP1D2_{SR} n'aurait pas la capacité à se lier au chromosome Y par lui-même. Mais chez les mâles porteur d'un X_{ST}, HP1D2_{SR}::GFP pourrait interagir avec la protéine endogène HP1D2_{ST} (qui est capable de se lier au chromosome Y). Dans ce cas, ce que nous observons en Figure 4.1b résulterait de la formation d'hétérodimères de HP1D2_{SR}::GFP avec la protéine endogène HP1D2_{ST}, cette dernière assurant la liaison à l'Y. Chez les mâles porteurs d'un X_{SR}, considérant que HP1D2_{SR} endogène n'est pas capable de se lier au chromosome Y, HP1D2_{SR}::GFP n'en serait pas capable non plus (Figure 4.1.d).

Hypothèse 2 : HP1D2_{SR} aurait gardé sa capacité à se lier directement au chromosome Y. Dans ce cas, en présence d'un X_{SR}, le deuxième élément distorteur contenu dans la duplication (*Dps_{SR}*) empêcherait la liaison de HP1D2_{SR} à l'Y, entraînant la distorsion.

Parmi toutes les conditions testées, celle pour laquelle HP1D2 ne s'accumule pas au chromosome Y et la seule qui correspond à un phénotype distorteur (Figure 4.1d). Ceci nous conduit à considérer *HP1D2* différemment : HP1D2, que l'on avait supposé préparer le chromosome Y pour la méiose, peut être vu plutôt comme un protecteur. La forme fonctionnelle du HP1D2 protégerait le chromosome Y du distorteur contenu dans la duplication. L'absence de HP1D2 sur le chromosome Y le rendrait vulnérable au distorteur.

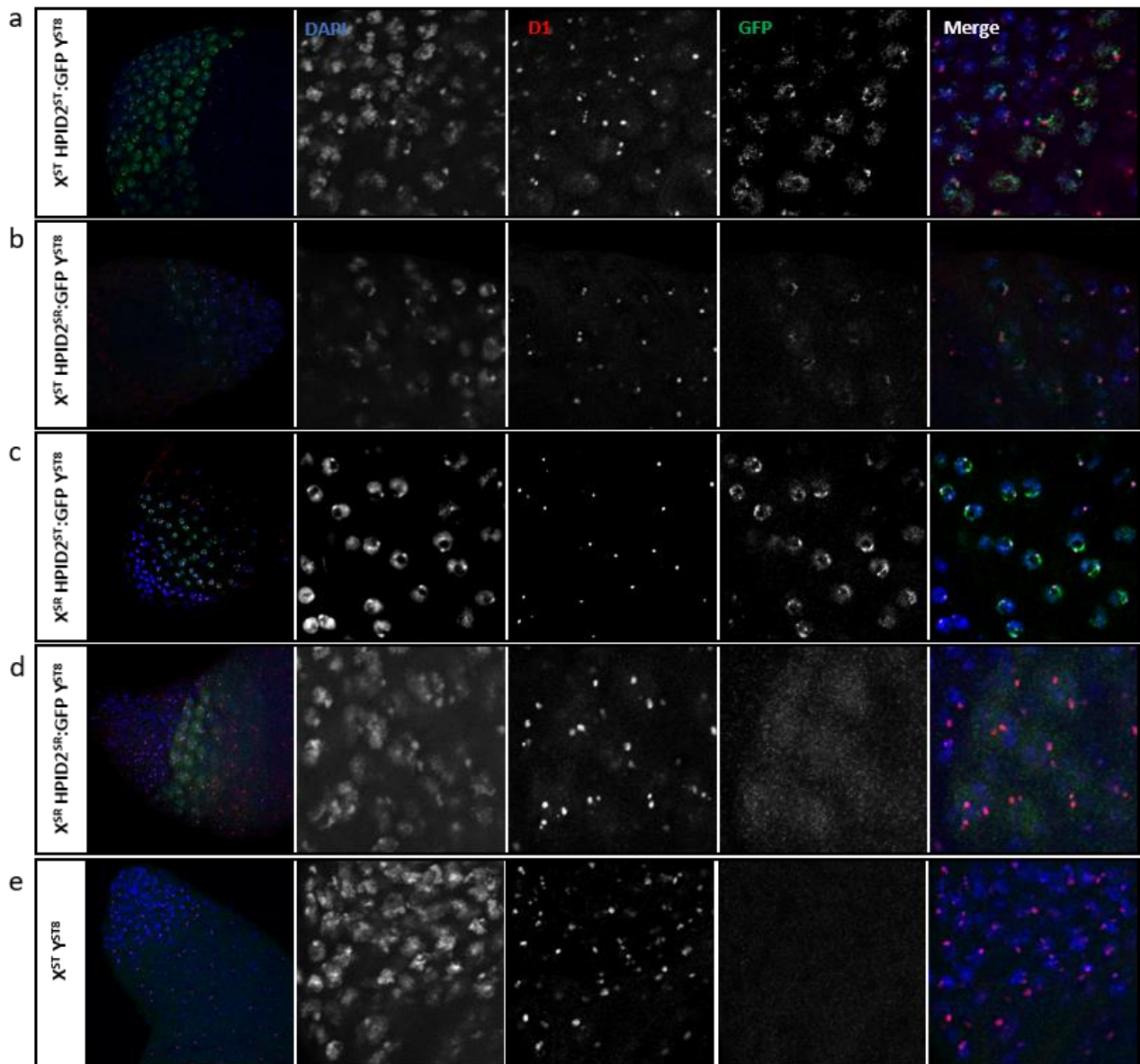


Figure 4.1: Localisation de HP1D2 dans les testicules. a. et b. Image de microscopie confocale d'un testicule de mâle portant le transgène $HP1D2^{ST}::GFP$ (a) ou $HP1D2^{SR}::GFP$ (b), un chromosome X^{ST} et un Y^{ST8} sensible. c. et d. Image de microscopie confocale d'un testicule de mâle portant le transgène $HP1D2^{ST}::GFP$ (c) ou $HP1D2^{SR}::GFP$ (d), un chromosome X^{SR} et un Y^{ST8} sensible. e. Image de microscopie confocale d'un testicule de mâle $ST8$. Les marquages ont été réalisés avec un anti-GFP (vert), anti-D1 (rouge) et DAPI (bleu).

HP1D2 forme des homodimères.

Afin de trancher entre les hypothèses 1 et 2, j'ai regardé la localisation de *HP1D2_{SR}::GFP* chez des mâles portant un chromosome X recombinant (noté X_{rec}). Le chromosome X_{rec} ne porte pas la duplication, mais porte l'allèle SR de *HP1D2*. Etant donné qu'un seul des éléments distorceurs (*HP1D2_{SR}*) est présent, les mâles porteurs de ce X_{rec} ont un sexe ratio équilibré dans leur descendance.

D'après l'hypothèse 1, la fixation de *HP1D2_{SR}::GFP* (Figure 4.1b) est due à la formation de dimère avec *HP1D2_{ST}* endogène. Si l'hypothèse 1 est la bonne on ne devrait pas observer la fixation de *HP1D2_{SR}::GFP* sur le chromosome Y chez des mâles portant X_{rec} .

D'après l'hypothèse 2, c'est la duplication qui empêche la fixation de *HP1D2_{SR}* (Figure 4.1d). Si cette hypothèse est la bonne, *HP1D2_{SR}::GFP* doit pouvoir se fixer sur l'Y chez les mâles X_{rec} .

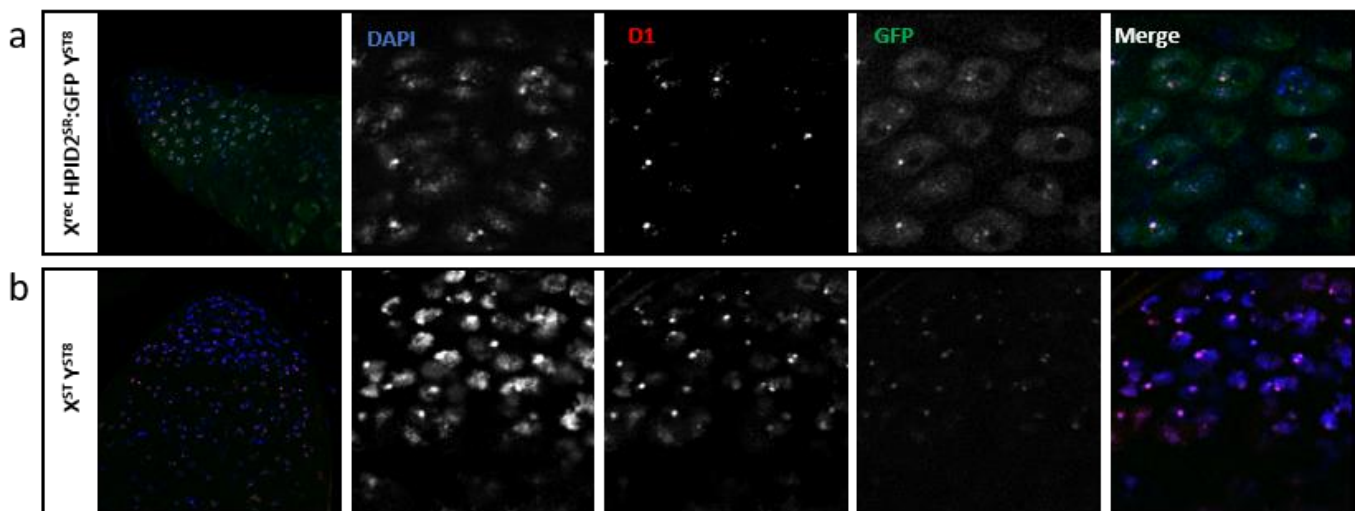


Figure 4.2: Localisation de *HP1D2* dans les testicules. a. Image de microscopie confocale d'un testicule de mâle portant le transgène *HP1D2_{SR}::GFP*, en X_{sn} et un Y sensible. b. Image de microscopie confocale d'un testicule de mâle ST8. Les marquages ont été réalisés avec un anti-GFP (vert), anti-D1 (rouge) et DAPI (bleu).

Comme on peut le voir en Figure 4.2.a, chez les mâles porteur d'un X_{rec} on observe une localisation diffuse de *HP1D2_{SR}::GFP* dans les spermatogonies. Cette observation valide l'hypothèse 1: chez les mâles X_{ST} , *HP1D2_{SR}::GFP* interagit avec la copie endogène *HP1D2_{ST}*, capable de se fixer au chromosome Y. C'est pourquoi nous observons une localisation de *HP1D2_{SR}::GFP* similaire à celle de *HP1D2_{ST}::GFP* en Figure 4.1.b.

Ce résultat nous permet de tirer deux conclusions. Premièrement, *HP1D2* forme des dimères. Il s'agit d'une propriété commune chez les *HP1*. Deuxièmement, malgré une délétion au niveau du CSD, *HP1D2_{SR}* a gardé sa capacité à dimériser avec la forme fonctionnelle de *HP1D2*. Ceci est en revanche beaucoup plus étonnant. Cependant si *HP1D2_{SR}* peut former des dimères, il reste à déterminer si elle peut toujours interagir avec d'autres partenaires protéiques.

Pour cette expérience en contexte X_{rec} l'anti-D1 (don du laboratoire d'Harmit Malik) n'était plus disponible. J'ai donc dû utiliser un autre anti-D1 (donné par le laboratoire de Yukiko Yamashita). Malheureusement ce nouvel anticorps entraîne des marquages non spécifiques avec l'anti-GFP. Ce résultat apporte un éclairage important sur le modèle, mais demande confirmation.

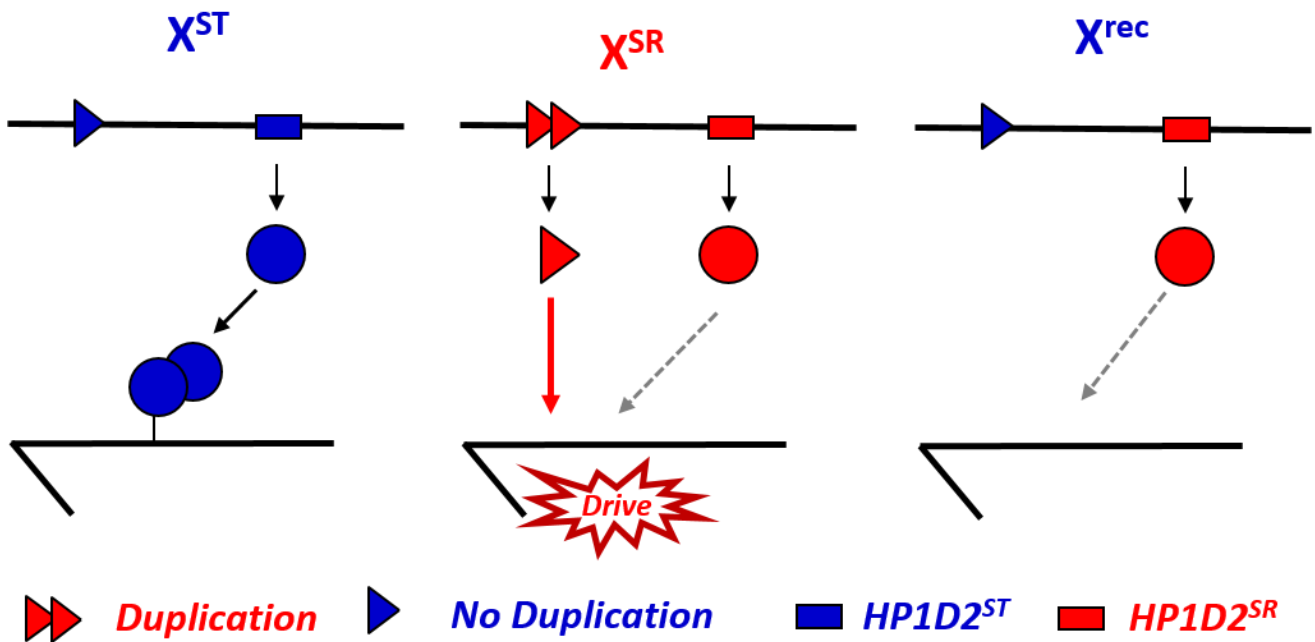


Figure 4.3 : Modèle moléculaire proposé pour la distorsion dans le système Paris.

HP1D2 se lie au chromosome Y sensibles et résistants.

Nous avons également comparé la localisation de HP1D2 chez les mâles porteurs d'un Y sensible (Y_{ST8}) ou d'un Y résistant (Y_{T2}). Chez les mâles X_{ST} , HP1D2ST::GFP se lie aux deux types de chromosomes Y (Figure 4.1a et Figure 4.4a). À l'inverse, chez les mâles X_{SR} , HP1D2^{SR}::GFP ne se lie ni au chromosome Y sensible, ni au chromosome Y résistant (Figure 4.1d et Figure 4.4b). Quel que soit le chromosome Y la forme distordrice de la protéine est diffuse dans la cellule.

Nos résultats suggèrent donc que HP1D2ST se fixe aussi bien sur des Y sensibles que des Y résistants (Figure 4.1a et Figure 4.4a), et donc qu'elle a des cibles sur les deux types de chromosomes. Cependant, bien que nous ne voyons pas de différence par immuno-marquage, cela ne signifie pas qu'il n'y a pas de variation plus subtile.

Il semble que la capacité de résistance du chromosome Y ne vient pas de la capacité de HP1D2 à s'y fixer. Bien que HP1D2^{SR} ne se lie pas au chromosome Y résistant, la distorsion observée est modérée, ce qui suggère que ces chromosomes sont capables de compenser la perte de HP1D2. Étant donné la fonction supposée de HP1D2, le mécanisme moléculaire de la résistance, toujours inconnu, pourrait être lié à la nature hétérochromatique du chromosome Y. Des variations, qualitatives et/ou quantitatives de son contenu en séquences répétées pourrait rendre le chromosome Y plus ou moins dépendant de HP1D2 et donc modifier la force de la distorsion. Par exemple, les chromosomes Y résistants pourraient produire des petits ARNs régulant l'hétérochromatine ou ciblant le distorreur

l'empêchant d'agir. Une autre possibilité est que les cibles de HP1D2 sont localisées dans une position moins critique ou ont un plus faible nombre de copie, rendant le chromosome Y résistant moins sensible au distorteur.

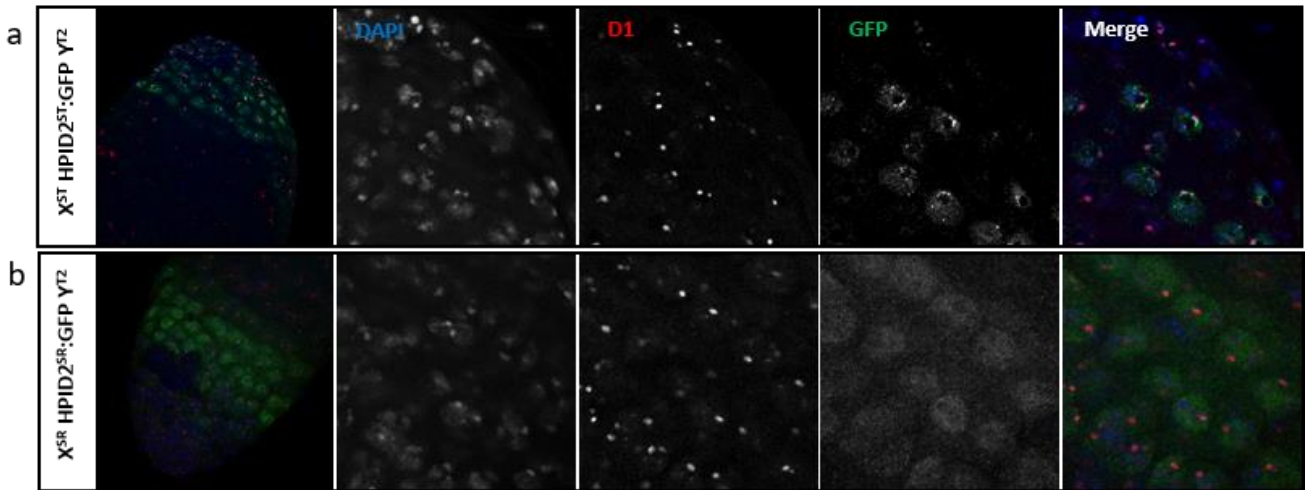


Figure 4.4: Localisation de HP1D2 dans les testicules. *a.* Image de microscopie confocale d'un testicule de mâle portant le transgène *HP1D2ST::GFP*, un chromosome *X^{sr}* et un *Y_{T2}* résistant. *b.* Image de microscopie confocale d'un testicule de mâle portant le transgène *HP1D2^{SR}::GFP*, un chromosome *X^{sr}* et un *Y_{T2}* résistant. Les marquages ont été réalisés avec un anti-GFP (vert), anti-D1 (rouge) et DAPI (bleu).

CONCLUSION

Ces nouveaux résultats donnent une idée plus précise des mécanismes moléculaires du système Paris et du rôle de HP1D2. Il est probable que HP1D2ST protège le chromosome Y et devrait être considéré plus comme un suppresseur que comme un distorteur. Cependant, la liaison génétique entre *HP1D2* et la duplication n'est pas attendue étant donné que les suppresseurs évoluent en théorie à des locus non liés. Ceci nous laisse penser que des allèles déficients de *HP1D2* étaient présents avant la survenue de la duplication. En effet, HP1D2 n'apparaît pas essentiel au chromosome Y en absence de la duplication. Il aurait donc pu accumuler des mutations produisant des allèles "perte de fonction". Ici nous avons utilisé un allèle SR particulier de HP1D2 mais dans les populations naturelles il existe une diversité d'allèles associés à la distorsion. De plus, l'absence de liaison de HP1D2^{SR} sur les chromosomes Y résistants nous conduit à envisager la résistance comme un processus actif. L'identification des régions cibles de HP1D2 permettrait de comprendre les bases génétiques de la résistance et la relation entre le chromosome Y et HP1D2.

Discussion

Discussion

Discussion Générale

1. Evolution du système Paris : au centre du conflit.

La résistance du chromosome Y : un caractère ancestral.

Drosophila simulans est une des espèces sœurs de *Drosophila melanogaster*, elle a été découverte en 1919 par Sturtevant. Tout comme son espèce sœur, *Drosophila simulans* est cosmopolite. Cependant son expansion semble beaucoup plus récente, la colonisation mondiale de l'espèce daterait seulement de quelques siècles (discuté dans Capy et Gibert 2004; Merçot et Charlat 2004; Solignac 2004). Endémique de Madagascar, elle aurait d'abord colonisé les îles de l'Océan Indien, et le continent Africain par la côte Est. L'activité de l'homme aurait ensuite permis son expansion à travers le globe (discuté dans Lachaise et Silvain 2004) (Figure 5.1). La distribution géographique des types mitochondriaux et des infections par des endosymbiontes *Wolbachia* soutient ce scénario (Solignac et Monnerot 1986; Merçot et Charlat 2004; Solignac 2004). En effet, chez *Drosophila simulans*, on trouve trois haplotypes mitochondriaux. Un premier haplotype est spécifique de Madagascar, aire d'origine supposée de l'espèce, il est également présent à la Réunion et sur l'île Maurice. Un second est observé aux Seychelles, à Hawaï et en Nouvelle Calédonie (Solignac et Monnerot 1986). Un dernier haplotype a été observé dans la majorité des populations examinées à travers le globe, il semble donc s'être répandu avec l'expansion de l'espèce.

Comment nos observations relatives au chromosomes Y peuvent elles s'intégrer dans ce scénario? Nous avons identifié 886 SNPs qui distinguent les 4 chromosomes Y résistants et les 3 chromosomes Y sensibles étudiés dans le Chapitre 3. Il est apparu que les chromosomes Y de *D. sechellia* et *D. mauritiana* portent un haplotype qui présente près de 90 % de similarité avec celui des chromosomes résistants de *D. simulans*. Le chromosome Y de *Drosophila melanogaster* montre également une plus forte similarité avec l'haplotype partagé par les Y résistants. Ces résultats montrent que l'haplotype porté par les Y résistants est ancestral par rapport à l'haplotype porté par les Y sensibles.

La population d'origine de *D. simulans*, à Madagascar, portait donc très vraisemblablement un chromosome Y appartenant à la lignée résistante (Figure 5.1). L'espèce aurait ensuite colonisé de manière indépendante les Seychelles et le continent Africain (Figure 5.1), comme le suggère la répartition géographique des haplotypes mitochondriaux. Cela permet également d'expliquer pourquoi le chromosome Y des Seychelles est si différent des chromosomes Y du continent Africain. En effet l'étude des polymorphismes moléculaires (SNPs) associés au chromosome Y a révélé que plus de 50% des polymorphismes sont spécifiques de la population des Seychelles. Comme dit précédemment, Hawaï et la Nouvelle Calédonie auraient été colonisés par la population des Seychelles. Selon Kopp et al (2006), ces deux populations porteraient le même haplotype (haplotype 0) que la population des Seychelles. Bien que ce résultat nécessite d'être confirmé par l'étude d'un

Discussion

panel plus important de chromosome Y provenant des Seychelles et de régions géographiques voisines (voir Perspectives), il s'intègre parfaitement dans le scénario évolutif de l'espèce. Les populations des Seychelles auraient évolué indépendamment des populations du continent Africain. Cette évolution indépendante aurait également favorisé l'émergence d'incompatibilité hybride entre les deux populations. L'une des observations que nous avons faites lors de la cartographie QTL semble soutenir cette hypothèse. En effet lors de la construction des lignées recombinantes consanguines, nous avons observé un fort taux de létalité chez les hybrides des populations Tunisienne (ST8) et des Seychelles (SR). Pour rendre nos lignées recombinantes homozygotes des croisements frères-sœurs ont été réalisés sur une grande génération (>16 générations). La forte consanguinité qui en résulte entraîne généralement un fort taux de létalité, phénomène bien connu. Cependant, le génotypage des lignées recombinantes a révélé une forte distorsion de ségrégation au niveau du chromosome II (Figure 2.2). Cette distorsion peut résulter d'incompatibilités génétiques entre les populations Tunisienne et des Seychelles, ce qui fait sens si ces deux populations ont évolué indépendamment.

Cependant le phénotype de résistance est-il ancestral ? Des données semblent aller dans ce sens. En effet Tao et al (2007b) ont testé la capacité de résistance du chromosome Y de *D. sechellia* face au distorateur du système Paris (X_{SR6} , provenant des Seychelles). Pour cela, ils ont introgressé le chromosome Y de *D. sechellia* chez des mâles portant un chromosome X_{SR} . Ils ont montré que le chromosome Y de *D. sechellia* n'était pas simplement capable de restaurer un sex-ratio équilibré, mais qu'il inversait le biais de sex-ratio. Les mâles portant ce chromosome X_{SR} et un Y de *D. sechellia* ont en moyenne 36 % de femelle dans leur descendance. Cette expérience a été répétée par William Rice (2014), cette fois le chromosome Y de *D. sechellia* n'inversait pas le biais de sexe ratio mais restaurait un sex-ratio équilibré (Rice 2014). Bien qu'il faille confirmer ces observations, elles semblent indiquer que le phénotype de résistance serait hérité du chromosome Y d'un ancêtre commun aux deux espèces. Mais qu'en est-il de *D. mauritiana* ?

Discussion

Emergence et diffusion de la lignée sensible.

Tout indique que la population à partir de laquelle *D. simulans* s'est répandue en Afrique portait un chromosome Y résistant (Figure 5.1). Cependant, plusieurs éléments nous conduisent à penser, qu'avant l'émergence du système Paris des chromosomes Y sensibles étaient présents sur le continent Africain et peut-être majoritaires (Figure 5.2).

Tout d'abord dans la quasi-totalité des populations hors Afrique que nous avons testées (Europe, Moyen Orient), nous avons trouvé des chromosomes Y sensibles (Figure 5.2-3). En France, par exemple, on a trouvé des chromosomes Y sensibles d'haplotype TTT, qui semblent être dérivés de la lignée sensibles TTA, que nous avons trouvée en Afrique du Nord mais aussi dans diverses régions du globe (Figure 3.1.1). L'haplotype TTA correspondrait à l'haplotype 3 décrit par Kopp et al 2006 (Table1) qu'ils ont retrouvé à Tahiti, en Australie, en Crète, en Israël, en Chine et aux Etats-Unis. De même, les lignées de stock centers, collectées sur le continent Américain, telles que la lignée W501 ou XD1, portent un chromosome Y de la lignée sensible TTA.

De plus en Afrique du Nord (Maroc, Tunisie, Egypte) avant l'installation des distorceurs Paris, et au Kenya en 1975, les chromosomes Y de la lignée sensible étaient présents (Figure 5.2-3).

Enfin, le très faible polymorphisme nucléotidique trouvé entre les 3 chromosomes Y résistants séquencés ne peut s'expliquer que par un événement récent de diminution drastique de la fréquence de la lignée résistante dans les populations de *D. simulans*. Tout porte à croire qu'avant l'expansion de *D. simulans* hors Afrique, les chromosomes Y de la lignée sensible auraient été majoritaires dans cette région. C'est la lignée sensible qui se serait répandue à travers le monde (Figure 5.2).

Plusieurs facteurs pourraient avoir favorisé la lignée sensible à cette époque. Tout d'abord l'apparition d'une mutation avantageuse a pu entraîner une forte sélection positive en faveur de cette lignée. Un avantage sélectif associé à un chromosome Y conduit rapidement à sa fixation dans la population (Clark et al 1987). En absence de chromosome X distorceur les mâles portant un chromosome Y résistant auraient une fitness inférieure à celle des mâles portant un Y sensible. Les tests de fertilités que j'ai réalisés jusqu'à présent ne semblent pas aller dans ce sens, une étude plus exhaustive devrait permettre de répondre à cette question (voir Perspectives). L'autre scénario fait appel à un conflit génétique, indépendant de celui provoqué par le système Paris. Chez *Drosophila simulans* on ne compte pas moins de 3 systèmes SR différents. Les systèmes Winter et Durham semblent très antérieurs au système Paris. Les systèmes *Sex Ratio* apparaissent de manière récurrente dans cette espèce. Cela traduit un conflit génétique intense entre les chromosomes X et Y, une course à la transmission qui peut fortement impacter l'évolution des chromosomes sexuels. On peut faire l'hypothèse que les Y de la lignée CAA, résistants au système Paris, ne l'étaient pas face à un distorceur antérieur. La fréquence des Y de la lignée CAA aurait ainsi diminué en faveur des Y de la lignée TTA qui, avantagé face à ce distorceur ancestral, se serait rapidement répandue dans les populations africaines. Le distorceur antérieur aurait ensuite pu disparaître ou devenir cryptique.

Discussion

L'émergence du système Paris et remplacement de la lignée sensible par la lignée résistante.

Les travaux antérieurs ont permis de déterminer que le système Paris aurait émergé en Afrique de l'Est (Atlan et al. 1997, Jutier et al. 2004) (Figure 5.3). Le système Paris se serait tout d'abord répandu en Afrique Sub-Saharienne et dans les îles de l'Océan Indien (Bastide et al. 2011). Lors des 20 dernières années, nous avons pu observer un élargissement de l'aire de répartition du système (Figure 5.4). Le système Paris a notamment migré vers le Moyen Orient et l'Afrique du Nord (Bastide et al. 2013, Helleu et al. 2019).

Grâce au typage moléculaire, nous avons pu suivre plus précisément l'évolution du chromosome Y en lien avec la dynamique du système Paris. Dans toutes les populations où le distorateur est ou a été présent dans un passé récent, nous avons systématiquement trouvé des chromosomes Y de la lignée résistante. Inversement, dans les populations encore naïves, des chromosomes Y sensibles ont été trouvés (Figure 5.4).

Un suivi temporel du système Paris nous a permis d'observer que l'invasion du système Paris dans une population naïve entraînait le remplacement rapide de chromosomes Y sensibles par des chromosomes Y résistants (Figure 5.4). Cela est parfaitement illustré par deux populations d'Afrique du Nord : Alexandrie (Egypte) et Marrakech (Maroc) (Chapitre 3 partie 1). De plus la lignée C167.4, collectée au Kenya en 1975, est porteuse d'un Y sensible alors que dans les années 90 le distorateur était déjà présent dans la population et la suppression y était totale (incluant les Y résistants). Ceci nous laisse supposer que ce qui s'est passé en Afrique du Nord a également eu lieu dans les populations d'Afrique Sub-Saharienne (Figure 5.4). Cependant le manque de données datant d'avant l'émergence du distorateur dans cette région ne nous permet pas de le vérifier. Le Kenya étant situé en Afrique de l'Est, berceau supposé du système Paris (Bastide et al. 2011), le système Paris pourrait être extrêmement récent.

Le remplacement du chromosome Y sensible par un chromosome Y résistant est extrêmement rapide. Les données moléculaires soutiennent l'hypothèse d'une origine unique du chromosome Y résistant en Afrique. Il est fort probable que la résistance n'ait pas émergé localement en réponse à la distorsion, mais plutôt que les Y résistants ont migré avec elle (Figure 5.4). C'est pourquoi l'ensemble des Y résistants trouvés en Afrique de l'Est sont étroitement apparentés, ils proviennent tous de la même population d'origine. Nous pouvons faire l'hypothèse qu'avant l'émergence du système Paris, l'haplotype résistant s'est maintenu dans quelques populations et/ou en fréquence faible. L'apparition des distorateurs Paris lui a conféré un avantage, lui permettant de se répandre et de devenir aujourd'hui l'haplotype majoritaire en Afrique, remplaçant l'haplotype sensible. L'émergence récente du système Paris en Afrique peut donc expliquer le peu de polymorphisme trouvé au sein des chromosomes Y résistants. Elargir notre étude à un panel plus large de chromosomes Y nous permettrait de vérifier notre hypothèse.

Discussion

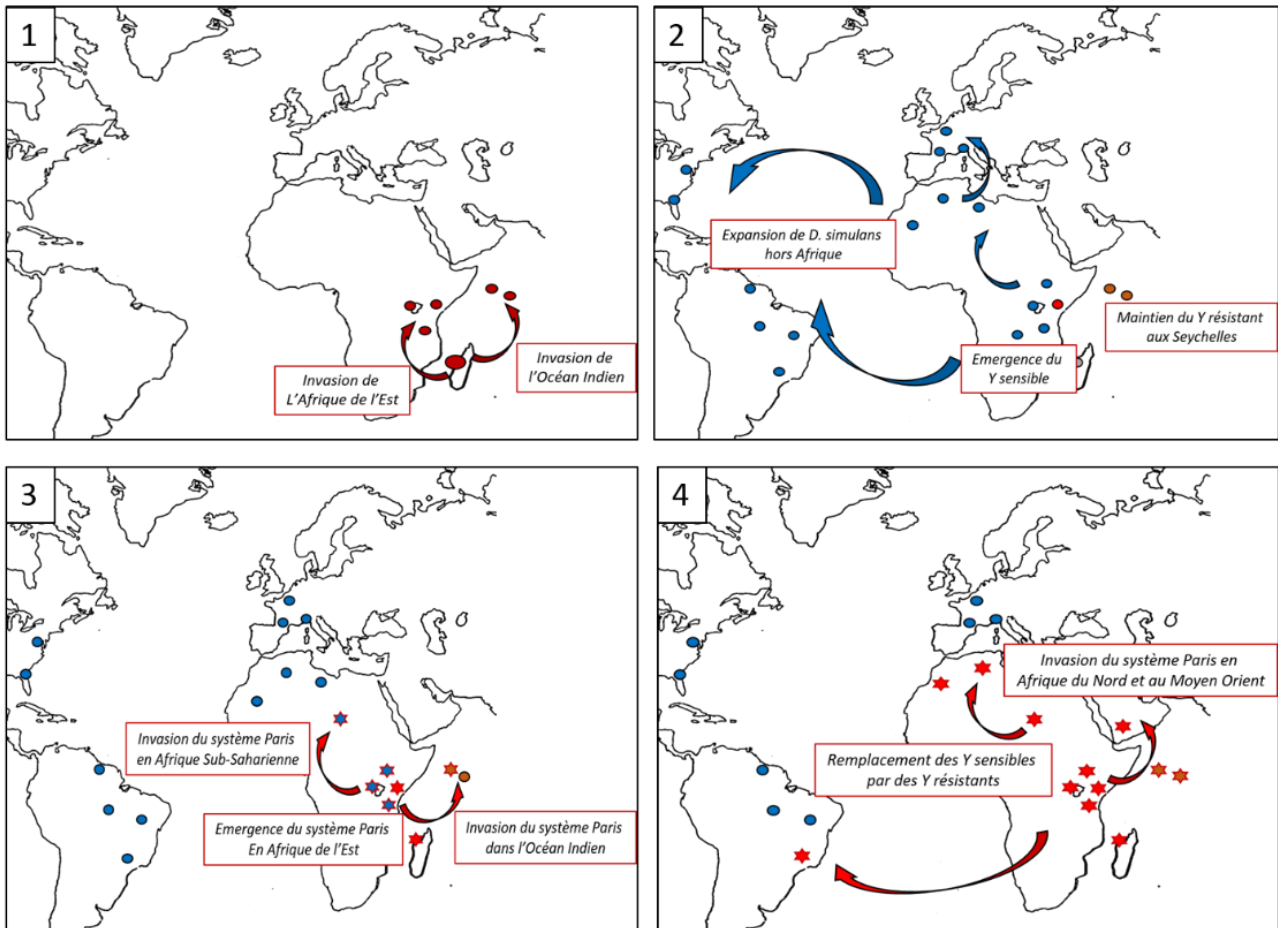


Figure 5.1 : Histoire évolutive de *Drosophila simulans* en lien avec le système Paris. 1. Première expansion de *Drosophila simulans*. ● Chromosome Y de la lignée résistante 2. Remplacement du chromosome Y de la lignée résistante ancestral (●) par un chromosome Y de la lignée sensible (●). 3. Emergence du système Paris en Afrique (☆). 4. Invasion du système Paris et remplacement de la lignée Y sensible par la lignée Y résistante. Les étoiles marquent la présence du distorateur du système Paris.

Comment le système Paris a-t-il émergé ?

La dynamique du système nous laisse penser qu'il s'agit d'un système très jeune. En effet, les travaux précédents ont révélé que la duplication avait moins de 500 ans (Fouvry et al. 2011). Bien que difficile à dater, il est fort probable que les allèles SR de *HP1D2* étaient présents dans les populations de *Drosophila simulans* avant l'apparition de la duplication. La version sans CSD de *HP1D2* (utilisé dans le Chapitre 4) n'est pas le seul allèle distorateur présent dans les populations. Il existe plusieurs allèles distorateurs de *HP1D2*, qui n'ont pas tous cette délétion. On peut donc supposer que *HP1D2* a commencé à dégénérer avant l'apparition de la duplication. En revanche, de par sa complexité il est vraisemblable que la duplication ait une origine unique. Par recombinaison elle se serait associée à un allèle dysfonctionnel de *HP1D2* et c'est l'association entre les deux éléments qui aurait favorisé leurs expansions. Le fait que ces deux éléments se soient rencontrés laisse supposer que les allèles SR de *HP1D2* sont relativement fréquents chez *D. simulans*. *HP1D2* aurait dégénéré indépendamment dans les populations, ce qui peut s'expliquer par le fait que *HP1D2* ne serait pas indispensable.

Discussion

2. Mécanismes moléculaires impliqués dans le système Paris.

Le système Paris est l'un des systèmes SR les mieux connus concernant les mécanismes moléculaires mis en jeu. Et pourtant il reste encore beaucoup d'inconnues. Quel est le rôle de HP1D2 ? Quelle est l'identité du deuxième élément distorateur localisé dans la duplication ? Quelle est l'identité des éléments supprimeurs autosomaux ? Qu'est-ce qui confère la capacité de résistance aux chromosomes Y ? Quels sont les mécanismes moléculaires mis en jeu dans la distorsion ?

HP1D2 a un rôle redondant

La protéine fonctionnelle de HP1D2 se localise spécifiquement au niveau du chromosome Y avant la méiose. Nous supposons que HP1D2 est impliqué dans la régulation de l'hétérochromatine du chromosome Y. Cependant il semblerait que HP1D2, issu d'une duplication de Rhino survenue il y a 15 à 22 millions d'année, ne soit pas nécessaire au chromosome Y de *D. simulans*. En effet, la seule perte de fonction de HP1D2 n'entraîne pas de biais de sex-ratio. L'une de nos collaboratrices (Chau-Ti Ting, Taiwan) a réalisé un KO de *HP1D2*, les analyses préliminaires ne montrent aucun effet phénotypique. Les mâles porteurs d'un KO de *HP1D2* sont viables, fertiles et ont un sex-ratio équilibré dans leur descendance. De plus, comme dit précédemment, dans les populations naturelles nous avons trouvé différents allèles distorateurs de *HP1D2*. Enfin, chez des espèces proches de *Drosophila simulans*, *HP1D2* est en cours de pseudogénéisation, voire a déjà disparu (Helleu et al. 2016). Tout ceci suggère fortement que, de manière générale, HP1D2 n'est pas indispensable au chromosome Y et a commencé à se pseudogénéiser chez *D. simulans*. Ceci peut s'expliquer par le fait que le rôle de *HP1D2* est redondant.

C'est seulement dans le cadre du système Paris que la forme fonctionnelle de HP1D2 devient nécessaire. En effet, comme montré dans le Chapitre 4, en présence de la duplication *Dpsr*, la distorsion est associée à l'absence de HP1D2 au niveau du chromosome Y. La présence d'une forme fonctionnelle de la protéine sur le chromosome Y le protégerait contre l'effet néfaste de la duplication (si *Dpsr* est associée à un gain de fonction) et/ou ferait office de « roue de secours » (si *Dpsr* est associée à une perte de fonction).

Discussion

Identité du deuxième élément distorateur : la Duplication

Au sein de la duplication, deux éléments apparaissent comme de bon candidats pour être le deuxième élément distorateur.

Parmi les gènes de la duplication on retrouve *trf2*. Trf2 est un facteur de transcription de la famille des TBP-related factors (Rabenstein et al. 1999), notamment exprimé dans les spermatocytes primaires. Au moment de la première division méiotique, Trf2 se trouve associé à la chromatine (Kopytova et al. 2006). Chez *Drosophila melanogaster*, une perte d'expression de *trf2* entraîne des anomalies de condensation de la chromatine et des défauts de ségrégation des chromosomes (Kopytova et al. 2006). *trf2* semble essentiel pour que les spermatocytes primaires rentrent en première division de méiose. *trf2* est également impliqué dans la régulation des éléments transposables télomériques dans les cellules germinales femelles (Morgunova et al. 2015). Des données préliminaires de transcriptomique montrent une répression de ces éléments transposables chez des mâles portant un X_{SR}, ce qui corrèlerait avec une surexpression de *trf2* (données non présentées). De plus, Andersen et al (2017) ont montré que *trf2* était impliqué dans la voie de régulation des clusters de piRNA localisés dans l'hétérochromatine, en interaction avec *Rhino*. Pour rappel, *HP1D2* provient de la duplication de *Rhino*. Ce qui nous a conduit à penser que *HP1D2* pourrait avoir gardé certaines des fonctionnalités de *Rhino*. *HP1D2* pourrait être impliqué dans la régulation des piRNA sur le chromosome Y, possiblement en interaction avec *trf2*. Une perturbation de la voie de régulation des piRNA pourrait déstabiliser l'hétérochromatine du chromosome Y et pourrait perturber sa ségrégation. *Trf2* apparait donc comme un bon candidat pour être le deuxième élément distorateur.

Cependant certains éléments ne corrèlent pas avec cette hypothèse. Tout d'abord, les défauts de compaction de la chromatine et de ségrégation des chromosomes sont dus à une perte d'expression de *trf2* (Kopytova et al. 2006). Dans le cas du système Paris, la distorsion serait due à une surexpression de *trf2* étant donné que le gène est dupliqué. Les données de transcriptomique nous confirment la surexpression de *trf2*. Nous ne pouvons pas exclure la possibilité de modifications post-transcriptionnelles qui pourraient affecter le niveau de traduction de *trf2*. De même nous ne savons pas si la copie proximale (version tronquée) est correctement traduite. Pourrait-elle coder pour un dominant négatif, qui mimerait l'effet d'une perte d'expression ?

D'autre part, selon l'hypothèse d'une interaction entre Trf2 et HP1D2, la mutation d'un des deux éléments, entrainerait une dérégulation de la voie de piRNA. Cependant dans le système Paris, les deux éléments distorateurs doivent être présent pour qu'il y ait distorsion. Il semble plus probable que *trf2* et *HP1D2* sont impliqués dans des voies similaires mais n'interagissent pas directement.

Le deuxième candidat est la région de jonction. Pour rappel la région de jonction est constituée d'une alternance de l'élément transposable *Hosim* et des *rIST*. Les *rIST* sont des motifs répétés réarrangés issus d'une courte séquencedu premier intron de *trf2*. On trouve différents réarrangement de ces *rIST*. L'organisation de la région de jonction n'est pas encore complètement élucidée. D'après un séquençage en *long read* (nanopore), nous savons que sur le chromosome X_{SR} cette région fait au

Discussion

moins 50 kb et contient plus de 11 copies d'*Hosim*, mais nous soupçonnons qu'elle soit beaucoup plus grande (>100kb). Cette région est transcrite et produit des petits ARNs de 21nt (potentiellement des endo-siRNA). Nous avons trouvé des transcrits chimériques *Hosim-rIST*, ce qui suggère que les *rIST* seraient transcrits via *Hosim*. Ces long ARN seraient ensuite pris en charge par la machinerie des ARN interférant (Ago2 et Dicer) pour produire des siRNA. Les petits ARNs produit par la région de jonction pourrait ensuite cibler *trf2* ou être impliqués dans le remodelage de la chromatine (sachant que *Hosim* est également présent sur le chromosome Y). Cependant nous n'avons aucune indication permettant de savoir si ces petits ARNs sont fonctionnels. Les données de transcriptomiques montrent une surexpression de *trf2*, ce qui rend peu probable l'hypothèse d'un silencing par les *rIST*. Mais nous ne pouvons toujours pas exclure des modifications post-transcriptionnelle.

Un système complexe

Les systèmes distorceurs sont par nature généralement très complexes. Le conflit génétique et la course à l'armement qu'ils imposent au génome favorisent la multiplicité des acteurs. Dans le Chapitre 1, nous avons souhaité mettre en avant cette complexité. Non seulement la grande majorité des systèmes distorceurs impliquent des acteurs multiples, mais également des processus variés. C'est certainement la raison pour laquelle, aucun système distorceur n'a encore été complètement compris. Le système Paris ne fait pas exception à cette règle, bien au contraire.

Tout d'abord, dans le Chapitre 2 je me suis intéressée à la suppression autosomale. Les supprimeurs autosomaux ont été fréquemment identifiés dans les populations de *D. simulans* en lien avec le système Paris (Montchamp-Moreau et al. 2001, Atlan et al. 2003). Pour la première fois le déterminisme génétique de cette suppression a été caractérisé dans la population des Seychelles (Chapitre 2, article 2). La cartographie de QTL réalisée a permis de mettre en évidence un modèle génétique complexe sous-jacent à la suppression, avec au moins 5 loci impliqués et de multiples interactions épistatiques. La multiplicité des acteurs suggère que plusieurs voies sont impliquées dans la suppression. Le modèle génétique identifié ici correspond à la suppression dans une population particulière, celle des Seychelles. Il nous est impossible de généraliser ce résultat aux autres populations Africaines présentant une suppression autosomale. Il est tout à fait possible que la suppression autosomale ait évolué différemment selon les populations.

La complexité de la suppression du système Paris met en évidence la complexité de la distorsion elle-même. En effet le moyen le plus rapide et efficace de mettre en place une suppression contre un distorceur serait de cibler le distorceur lui-même. C'est d'ailleurs le cas dans le système Winters chez *D. simulans*. Le supprimeur *nmy* provient de la duplication du distoteur, *Dox*, et produit des ARN interférant qui vont cibler *Dox*. Il semblerait que ce mode d'action soit courant chez *D. simulans* (communication personnelle Jeffrey Vendanayagam, Eric Lai lab). Pourtant le système Paris ne semble pas suivre ce schéma, ce qui peut s'expliquer par la nature complexe de la distorsion. En effet, comparé aux autres systèmes chez *D. simulans*, le système Paris implique deux loci distorceurs : la duplication et *HPID2*. C'est la perte de fonction de *HPID2* qui entraîne la distorsion, un système

Discussion

ARN interférant ne semble donc pas approprié pour cibler ce distorreur. D'autre part, bien que l'élément causal de la duplication ne soit pas encore identifié, les analyses de transcriptomique ont révélé que ni les supresseurs autosomaux, ni les Y résistants n'affectaient l'expression des gènes présents dans la duplication (résultats non présenté). On ne peut tout fois pas exclure l'implication de modifications post-transcriptionnelle.

La complexité de ce système, ainsi que de la majorité de système distorreur provient également de la nature des mécanismes et des acteurs mis en jeu. En effet, comme présenté dans le Chapitre 1, une composante commune semble émerger des systèmes connus : l'hétérochromatine. L'hétérochromatine est un compartiment du génome encore très mal connu. Sa nature extrêmement répétée rend son étude difficile. Et pourtant, elle apparait comme un acteur majeur des systèmes distorresseurs (voir Chapitre 1).

A quoi est due la résistance ?

D'après notre scénario évolutif, les chromosomes Y résistants auraient une origine unique (Chapitre 3 partie 2). On peut donc penser que la résistance provient d'un même élément génétique pour tous les Y résistants. Cependant nous avons observé une grande variation du phénotype de résistance entre les chromosomes Y, même au sein d'une population (Chapitre 3 partie 1). Le chromosome Y est entièrement hétérochromatique, principalement composé de séquences répétées (élément transposable ou satellites), ces séquences sont censées évoluer très rapidement, par des mécanismes d'expansion et de contraction. Il apparait également possible que le phénotype de résistance soit associé à des variations structurales impliquant de telles séquences répétées. En effet dans le Chapitre 3 nous avons montré que parmi un échantillon de chromosomes Y résistants, provenant parfois d'une même population, il y avait de nombreux réarrangements structuraux (Figure 3.1.7). De même les chromosomes Y de la lignée résistante et de la lignée sensible se distinguent par leur abondance en satellites (Figure 3.2.2). Plusieurs de ces satellites sont d'ailleurs spécifiques du chromosome Y (Table 3.2.3 et Figure 3.2.3). Une ou plusieurs séquences particulières pourraient-être impliquées, il pourrait s'agir de variation quantitative (nombre de copie) ou qualitative (localisation).

Discussion

Hypothèse : mécanisme moléculaire du système Paris.

Je propose un modèle mécanistique du système Paris d'après l'ensemble de nos données actuelles.

Tout d'abord les 2 éléments distorateur agiraient par des voies parallèles et redondantes. La relation d'épistasie ne proviendrait donc pas d'une interaction directe entre *HP1D2* et le deuxième élément distorateur (que je nommerai *Dp*).

La distorsion serait due à une mauvaise régulation d'une région hétérochromatique du chromosome Y constituée des séquences cibles du distorateur. Ces séquences cibles pourraient être des séquences satellites, ou des éléments transposables particuliers. Les éléments transposables télomériques (Het-A, TART et TARHE) sont des candidats potentiels, car *Trf2* est impliqué dans leur régulation. De plus, alors qu'ils sont normalement spécifiques des télomères, ces éléments sont enrichis dans une région péri-centromérique du chromosome Y chez *D. simulans* et ses espèces sœurs (Agudo et al. 1999; Berloco et al. 2005).

Chez des mâles portant un chromosome X^{ST} , *HP1D2* et *Dp*, seraient impliqués dans la régulation de l'hétérochromatine de cette région. *HP1D2* agirait dans les cellules pré-méiotiques tandis que *Dp* pourrait agir plus tardivement lors de la spermatogénèse (dans les spermatocytes primaires par exemple). La répression de cette région pourrait passer par la production de petits ARNs où par des modifications épigénétiques (méthylation de H3K9 par exemple).

La forme fonctionnelle de *HP1D2* pourrait compenser la perte de la régulation par *Dp*. En revanche si on perd les deux éléments (comme chez les mâles X^{SR}) cette région est complètement dérégulée ce qui va perturber la ségrégation des chromatides sœurs lors de la méiose.

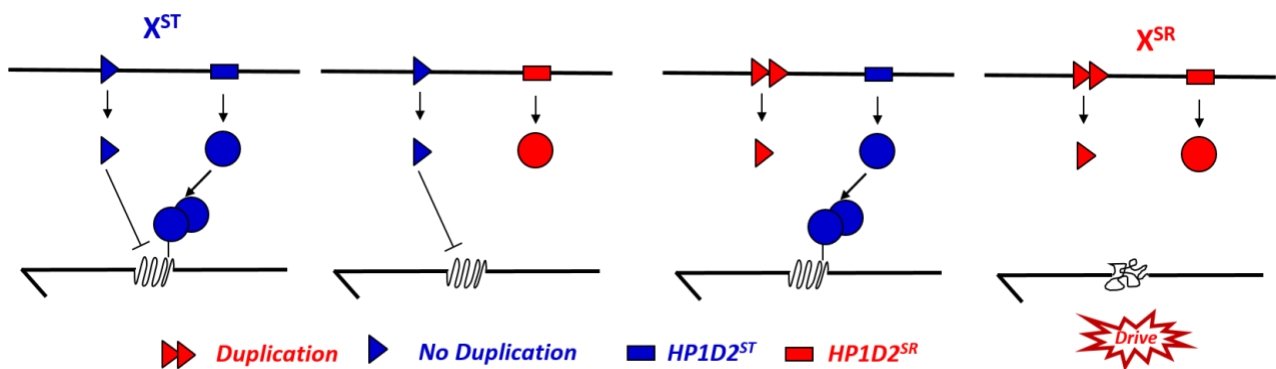


Figure 5.2 : Modèle du mécanisme moléculaire de la distorsion.

Perspectives

Suppression autosomale

Afin de comprendre le déterminisme génétique de la suppression autosomale, nous avons tout d'abord réalisé une cartographie de QTL. Cette cartographie a mis en évidence un modèle génétique complexe dans lequel la suppression autosomale implique au moins 5 QTLs et de nombreuses relations d'épistasie. Cela donne des indications sur le nombre d'éléments mis en jeu dans la suppression, et sur les interactions entre ces éléments. Cependant l'identité des éléments génétiques reste encore inconnue. En effet les régions des QTLs sont trop larges, contenant des centaines de gènes, ne permettant pas d'identifier des gènes candidats. Des approches complémentaires sont donc nécessaires pour élucider la nature des éléments impliqués dans la suppression autosomale et les mécanismes moléculaires mis en jeu.

Dans cette optique, nous avons démarré une analyse de transcriptomique comparative entre la population Tunisienne qui ne présente ni supresseurs ni distorcteur et la population des Seychelles où la suppression est complète. L'objectif était d'identifier des gènes différentiellement exprimés entre les deux populations, localisés dans les QTLs. Des analyses préliminaires ont révélé d'importantes variations entre les transcriptomes testiculaires des deux populations. Des analyses plus poussées sont nécessaires afin de distinguer les variations populationnelles des variations liées à la suppression.

Cette étude a été réalisée sur les long ARN messagers. Cependant la suppression n'implique pas nécessairement des gènes. Dans le système Winters par exemple ce sont de petits ARNs qui sont produit par le locus supresseur et qui vont cibler le distorcteur *Dox* (Lin et al. 2017). Il serait donc intéressant de compléter l'étude de transcriptomique par des approches complémentaires.

Tout d'abord, étant donné l'importance de petits ARNs dans la régulation de l'hétérochromatine, il conviendrait de réaliser une analyse du transcriptome testiculaire des petits ARNs entre les deux populations.

De plus, l'émergence d'un distorcteur de ségrégation dans une population va entraîner la sélection d'élément supresseur. Cette sélection est d'autant plus forte, que la force et la fréquence du distorcteur est élevé. Afin de compléter l'étude sur la suppression autosomale, il serait intéressant de rechercher les marques de cette sélection positive sur les autosomes. Pour cela nous pourrions réaliser du séquençage en masse (pool sequencing) sur plusieurs populations ; comme les Seychelles où l'invasion est ancienne et la suppression complète ou le Maroc où l'invasion est très récente. La comparaison de plusieurs populations pourrait également permettre de déterminer si la suppression autosomale a des bases génétiques communes dans ces populations.

Perspectives

Chromosomes Y résistants

Les travaux réalisés sur le chromosome Y, présentés dans le Chapitre 3, ont fourni des éléments importants sur l'histoire évolutive du chromosome Y, en relation avec le système Paris. Plusieurs approches permettront de compléter cette histoire.

La recherche de polymorphisme moléculaire (SNP) suggère que les chromosomes Y résistants (ou sensibles) ont une origine unique, du moins en Afrique de l'Est. Nous souhaitons maintenant élargir notre panel de populations testées. En effet il serait intéressant de savoir si le profil que nous observons en Afrique de l'Est est généralisable à d'autres populations Africaines et surtout hors Afrique. Les chromosomes Y résistants en Afrique de l'Ouest sont-ils semblables à ceux d'Afrique de l'Est. Y a-t-il plus de variation entre chromosomes Y sensibles dans les populations Européennes et Américaines que celle observées au sein des populations Africaines. Le profil très particulier retrouvé aux Seychelles est-il spécifique de cet archipel, ou le retrouve-t-on également dans d'autres îles de l'Océan Indien (Madagascar, Mayotte...) ? Les populations d'Hawaï et de Nouvelle Calédonie portent le même haplotype mitochondrial que la population des Seychelles. Qu'en est-il du chromosome Y dans ces régions ?

Les données moléculaires indiquent également que la lignée des haplotypes résistants est ancestrale chez *D. simulans*. Il serait intéressant de déterminer si les chromosomes Y de *Drosophila sechellia* et *Drosophila mauritiana* ont conservé le phénotype de résistance. Lors d'une étude ultérieure, Tao et al. (2007b) ont introgressé le chromosome Y de *D. sechellia* dans une lignée de *D. simulans* portant un chromosome X_{SR}. Leur résultat suggère que le chromosome Y de *D. sechellia* est capable de résister au distorateur du système Paris. Ce résultat semble valider l'hypothèse de l'ancestralité de la résistance, mais demande à être confirmé. Pour cela il faudrait introgresser les chromosomes Y de *D. sechellia* et *D. mauritiana* dans des lignées *simulans* portant un chromosome X_{SR}. La difficulté de cette expérience viendra des incompatibilités hybrides entre les différentes espèces.

Enfin d'après notre scénario évolutif la lignée des Y sensibles dérive de la lignée résistante ancestrale. Dans un premier temps les chromosomes Y sensibles auraient supplanté les chromosomes Y résistants et se seraient largement répandus dans les populations de *D. simulans*. Le faible polymorphisme moléculaire entre Y sensibles suggère que cet événement est relativement récent. Suite à l'émergence du système Paris, les chromosomes Y résistants ont commencé à se répandre dans les populations en même temps que le distorateur. Ces cycles rapides de remplacement de chromosomes Y à l'échelle d'une espèce sont signes d'un conflit génétique intense. Outre l'impact de distorateur de ségrégation, l'impact du chromosome Y sur la fitness des mâles pourrait également être un facteur important dans cette dynamique. Afin de mieux comprendre quels paramètres sont en jeu dans le remplacement d'un Y résistant par un Y sensible ou inversement, il est important de s'intéresser aussi à cet aspect. Tout d'abord en mesurant la fertilité de mâles porteurs de différents chromosomes Y, avec ou sans le X_{SR}. Afin de faire une mesure réaliste de la fitness, l'expérience la plus adaptée me semble une évolution expérimentale mettant en compétition les deux types de chromosome Y. Pour cela nous pourrions

Perspectives

introduire des Y résistants dans des populations portant un Y sensible, à différente fréquence et en présence ou absence du distorateur, et suivre la dynamique de ces deux chromosomes Y dans le temps. Les données de populations (Chapitre 3, article 3) suggèrent qu'en présence du X_{SR}, même à faible fréquence, le chromosome Y résistant est capable de se fixer très rapidement dans la population. Une expérience d'évolution expérimentale permettrait de reproduire de telles situations pour déterminer précisément quels sont les paramètres qui déterminent un tel remplacement.

Les données nous ont apporté un éclairage sur l'histoire évolutive du chromosome Y et la dynamique conjointe du chromosome Y et des X_{SR}. Cependant elles ne nous ont pas permis de déterminer les bases génétiques de la résistance. Qu'est-ce qui confère au chromosome Y sa capacité à résister au distorateur ?

La diversité nucléotidique est extrêmement faible entre les chromosomes Y résistants et ne permet pas d'expliquer les variations phénotypiques observés. Il est fort probable que ces variations, et donc la résistance, soient associées à des variations structurales (réarrangement chromosomique, expansion/contraction de séquences répétées). Dans le chapitre 3, article 3, les données de FISH ont en effet révélé d'importantes variations structurales. Afin de faire une étude globale des variations structurales entre les deux types de chromosome Y, il faudrait réaliser du séquençage longue reads sur les mêmes lignées iso-Y utilisé pour le Chapitre 3 article 4.

Les données illumina ont tout fois permis d'identifier un certain nombre de séquences satellites en abondance variable entre les deux types de chromosomes Y. Certains de ces satellites sont particulièrement intéressants car spécifique du chromosome Y. Il faudrait réaliser des expériences d'hybridation in situ (FISH) pour confirmer la localisation de ces séquences sur le chromosome Y. Sont-elles réparties sur l'ensemble du chromosome ou localisé dans des régions particulières telles que le centromère ou les télomères ? Y a-t-il une différence de localisation systématique entre des Y sensibles et des Y résistants ? Cependant l'expérience qui devrait nous apporter l'éclairage le plus important et très certainement celle qui vise à identifier les séquences cibles de HP1D2 sur le Y (développé plus loin).

Les petits ARNs semblent être de bons candidats pour la résistance. Les voies de petits ARNs sont connues pour être sensibles à la température. Des tests de sensibilité du distorateur à la température ont déjà été effectués et n'ont pas montré d'effet flagrant de la température sur la force de distorsion. Cependant l'effet de la température sur la résistance n'a pas encore été testé. Une variation de la force de la résistance avec la température constituerait un indice probant de l'implication de petits ARNs dans la résistance.

Perspectives

Enfin, afin de compléter cette étude sur le chromosome Y, nous avons démarré un projet de transcriptomique comparative (long et petits ARNs) entre des mâles portant un chromosome Y résistant ou sensible, avec ou sans le Xsr. Les analyses préliminaires montrent tout d'abord que le chromosome Y impacte l'expression de centaines de gènes à travers le génome. Certains de ces gènes pourraient être impliqués dans le système Paris. Outre l'expression des gènes, le chromosome X et le chromosome Y impactent également l'expression de certains éléments transposables, tel que les éléments présents au niveau des télomères. Il faudrait déterminer si les variations d'expression observées sont dues à une dérégulation de l'expression ou à une variation du nombre de copie de ces éléments. Nous pourrions notamment utiliser des sondes ARNs ciblant ces éléments transposables pour confirmer leurs variations d'expression et surtout déterminer à quels stades elles surviennent dans les testicules.

La distorsion

Concernant la distorsion, il reste encore deux inconnues majeures : l'identité du deuxième élément distorateur (dans la duplication) et les mécanismes moléculaires mis en jeu.

Tout d'abord, concernant HP1D2, son identité et sa localisation sont connues mais pas sa fonction ni le processus par lequel il provoque la distorsion. Mieux comprendre le rôle de HP1D2 nécessite de répondre à deux questions majeures. Quelles sont les séquences cibles de HP1D2 ? Quels sont ses partenaires protéiques ? Afin de répondre à ces questions j'ai entamé lors de ma thèse deux expériences essentielles, un Cut and Run et une CoIp-spectrométrie de masse. Malheureusement celles-ci n'ont pas encore pu être finalisées.

Connaitre les séquences cibles de HP1D2 est comme une pièce du puzzle indispensable pour comprendre le mécanisme global. En effet, cela pourrait nous renseigner sur la fonction de HP1D2, la cause de la distorsion ou encore la nature de la résistance du chromosome Y. Cependant HP1D2 est exprimé uniquement dans les cellules pré-méiotique testiculaires et cible une région hétérochromatique. La technique classique du ChIPseq est apparue inappropriée. C'est pourquoi nous avons opté pour une nouvelle technique, le Cut and Run. Le Cut and Run est une technique beaucoup plus sensible, précise et nécessitant beaucoup moins de matériel biologique que le ChIPseq. Pour ce projet, nous avons démarré une collaboration avec Kami Ahmad (Fred Huch Cancer Res Center, Seattle), dont le laboratoire a développé la technique (Skene et Henikoff 2017). Nous avons réalisé une première expérience de Cut and Run et bien que les résultats préliminaires soient prometteurs la technique demande encore beaucoup de mise au point pour être pleinement efficace sur ce type de tissu. Pour ce projet nous utilisons les lignées transgéniques $P\{HP1D2_{ST}::GFP\}$ et $P\{HP1D2_{SR}::GFP\}$ (voir Chapitre 4). Avec ces mêmes lignées nous avons montré qu'en réalité l'allèle SR de HP1D2 était incapable de se fixer au chromosome Y. Il nous sert ici de contrôle négatif. Chacune des constructions a été introduite chez des mâles portant un chromosome Y sensible (ST8 ou A14) ou un chromosome Y résistant (T2 ou A110). Nous espérons ainsi déterminer s'il existe des variations des

Perspectives

séquences cibles entre Y sensibles et résistants, qui n'auraient pas pu être détectées dans le Chapitre 4.

Dans un deuxième temps, ces mêmes lignées seront également utilisées pour réaliser une CoImmunoprécipitation de HP1D2::GFP (utilisation d'un anticorps anti-GFP). L'éluat sera ensuite passé en spectrométrie de masse, afin d'identifier les partenaires protéiques de HP1D2. HP1D2 interagit-il avec un élément codé par la duplication ou les deux distorceurs agissent-ils indépendamment ?

Enfin l'autre point important est l'identité du deuxième élément distorceur. Le candidat que nous privilégions est le gène *trf2*. En 2017, Andersen et al. ont montré que *trf2* et *rhino* étaient impliqués dans la régulation de l'expression de piCluster hétérochromatinien chez *Drosophila melanogaster*. Nous pourrions réaliser un RNAi de *trf2* afin de tester son implication dans la distorsion. L'autre candidat intéressant est un dérivé de *trf2*, les *rIST*, localisé dans la région de jonction. Nous savons que les *rIST* sont présents avec un très grand nombre de copies dans la région de jonction et produisent des siRNA (données non montrées). Ces siRNA sont-ils fonctionnels et la cause de la distorsion ? Des délétions ciblées permettraient de déterminer si c'est dans cette région ou dans le fragment dupliqué qu'est localisé le distorceur. Pour cela nous envisageons d'utiliser la technique de CRISPR/Cas9, nous avons dessiné deux couples d'ARN guides (la construction des plasmides a déjà été réalisé). Le premier cible la région de jonction de part et d'autre, il devrait permettre de faire une délétion de tout ou partie de cette région. Le deuxième cible la copie proximale de *trf2* (celle qui est tronquée et sous le « contrôle » de la région de jonction. La recherche de polymorphismes moléculaires (SNPs) entre les copies proximales et distales nous a permis de dessiner des ARN guides spécifiques de la copie proximale.

Conclusion Générale

Pendant ma thèse je me suis intéressée aux différents acteurs du système Paris : les supprimeurs autosomaux, les Y résistants et les distorateurs. Mon objectif était de travailler sur l'évolution du système mais également sur les mécanismes moléculaires, d'allier le fonctionnel et l'évolution.

J'ai commencé ma thèse en m'intéressant à la suppression autosomale. La cartographie de QTL nous a permis de mettre en évidence la complexité des bases génétiques de la suppression autosomale. Nous savons maintenant que de multiple loci sont impliqués avec de nombreuses relations d'épistasie.

L'étude de la résistance du chromosome Y n'était pas au départ un axe central de mon projet. Cependant au cours de la première année j'ai eu la chance de rencontrer Amanda Larracuenta lors d'un congrès où elle a présenté son assemblage du chromosome Y de *Drosophila simulans*. Cette rencontre nous a donné l'opportunité d'aller plus loin dans l'étude du chromosome Y et est finalement devenue, comme vous avez pu le voir, une partie importante de ma thèse. L'étude populationnelle du système Paris ainsi que le séquençage de différents chromosomes Y a permis de retracer l'histoire évolutive du chromosome Y et de montrer qu'elle est étroitement liée à celle du système Paris. Nous savons maintenant que l'haplotype résistant est ancestral. Les chromosomes Y résistants n'ont pas émergé localement mais semblent plutôt avoir une origine unique en Afrique. Les variations phénotypiques de la résistance ne semblent pas associées à des polymorphismes nucléotidiques, ce qui suggère l'implication de séquences répétées.

Enfin, la plus grosse partie de ma thèse a été consacré aux mécanismes moléculaires de la distorsion, via l'étude de HP1D2. Pour cela j'avais pour projet d'identifier les sites de fixation de HP1D2 à la chromatine et ses partenaires protéiques. Bien que cette partie du projet n'est pas encore été finalisée, l'étude cytologique apporte un éclairage sur le rôle de HP1D2 et sa relation avec le chromosome Y. La forme fonctionnelle de HP1D2 semble « protéger » les chromosomes Y du distorateur contenu dans la duplication. En revanche HP1D2 n'est pas nécessaire dans un contexte standard. Les chromosomes Y résistants semblent être moins dépendant de HP1D2 que des Y sensibles.

Dans l'ensemble, mes travaux ont permis de mettre en avant la complexité du système, la diversité des mécanismes qui sont mis en jeu et montre l'intérêt de replacer des études moléculaires dans un contexte évolutif. En effet comprendre comment le système a évolué et sa dynamique nous donne des pistes de réflexion concernant les possibles mécanismes moléculaires associés.

Bibliographie

Bibliographie

- Agudo, M., A. Losada, J. P. Abad, S. Pimpinelli, P. Ripoll, et A. Villasante. 1999. « Centromeres from Telomeres? The Centromeric Region of the Y Chromosome of *Drosophila Melanogaster* Contains a Tandem Array of Telomeric HeT-A- and TART-Related Sequences ». *Nucleic Acids Research* 27 (16): 3318-24.
<https://doi.org/10.1093/nar/27.16.3318>.
- Akera, Takashi, Lukáš Chmátal, Emily Trimm, Karren Yang, Chant Aonbangkhen, David M. Chenoweth, Carsten Janke, Richard M. Schultz, et Michael A. Lampson. 2017. « Spindle Asymmetry Drives Non-Mendelian Chromosome Segregation ». *Science* 358 (6363): 668-72. <https://doi.org/10.1126/science.aan0092>.
- Akera, Takashi, Emily Trimm, et Michael A. Lampson. 2019. « Molecular Strategies of Meiotic Cheating by Selfish Centromeres ». *Cell* 178 (5): 1132-1144.e10.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.07.001>.
- Aldrich, John C., et Keith A. Maggert. 2014. « Simple Quantitative PCR Approach to Reveal Naturally Occurring and Mutation-Induced Repetitive Sequence Variation on the *Drosophila* Y Chromosome ». Édité par Nadia Singh. *PLoS ONE* 9 (10): e109906.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109906>.
- Andersen, Peter Refsing, Laszlo Tirian, Milica Vunjak, et Julius Brennecke. 2017. « A Heterochromatin-Dependent Transcription Machinery Drives PiRNA Expression ». *Nature* 549 (7670): 54-59. <https://doi.org/10.1038/nature23482>.
- Angelard, Caroline, Catherine Montchamp-Moreau, et Dominique Joly. 2008. « Female-Driven Mechanisms, Ejaculate Size and Quality Contribute to the Lower Fertility of Sex-Ratio Distorter Males in *Drosophila Simulans* ». *BMC Evolutionary Biology* 8 (1): 326.
<https://doi.org/10.1186/1471-2148-8-326>.
- Aravin, A. A., M. S. Klenov, V. V. Vagin, F. Bantignies, G. Cavalli, et V. A. Gvozdev. 2004. « Dissection of a Natural RNA Silencing Process in the *Drosophila Melanogaster* Germ Line ». *Molecular and Cellular Biology* 24 (15): 6742-50.
<https://doi.org/10.1128/MCB.24.15.6742-6750.2004>.
- Aravin, Alexei A., Natalia M. Naumova, Alexei V. Tulin, Vasilii V. Vagin, Yakov M. Rozovsky, et Vladimir A. Gvozdev. 2001. « Double-Stranded RNA-Mediated Silencing of Genomic Tandem Repeats and Transposable Elements in the *D. Melanogaster* Germline ». *Current Biology* 11 (13): 1017-27. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(01\)00299-8](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(01)00299-8).
- Archer, C. R., R. M. Stephens, M. D. Sharma, et D. J. Hosken. 2017. « The *Drosophila Simulans* Y Chromosome Interacts with the Autosomes to Influence Male Fitness ». *Journal of Evolutionary Biology* 30 (10): 1821-25. <https://doi.org/10.1111/jeb.13141>.
- Ardlie, K. G., et L. M. Silver. 1996. « Low Frequency of Mouse t Haplotypes in Wild Populations Is Not Explained by Modifiers of Meiotic Drive ». *Genetics* 144 (4): 1787-97.

Bibliographie

- Ardlie, Kristin G. 1998. « Putting the Brake on Drive: Meiotic Drive of t Haplotypes in Natural Populations of Mice ». *Trends in Genetics* 14 (5): 189-93. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(98\)01455-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(98)01455-3).
- Artzt, Karen, Hee-Sup Shin, et Dorothea Bennett. 1982. « Gene Mapping within the T/t Complex of the Mouse. II. Anomalous Position of the H-2 Complex in t Haplotypes ». *Cell* 28 (3): 471-76. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(82\)90201-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(82)90201-X).
- Atlan, A., D. Joly, C. Capillon, et C. Montchamp-Moreau. 2004. « Sex-Ratio Distorter of *Drosophila Simulans* Reduces Male Productivity and Sperm Competition Ability ». *Journal of Evolutionary Biology* 17 (4): 744-51. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2004.00737.x>.
- Atlan, Anne, Caroline Capillon, Nicolas Derome, Denis Couvet, et Catherine Montchamp-Moreau. 2003. « The Evolution of Autosomal Suppressors of Sex-Ratio Drive in *Drosophila Simulans* ». *Genetica* 117 (1): 47-58. <https://doi.org/10.1023/A:1022312615773>.
- Atlan, Anne, Hervé Merçot, Claudie Landre, et Catherine Montchamp-Moreau. 1997. « THE SEX-RATIO TRAIT IN *DROSOPHILA SIMULANS*: GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION OF DISTORTION AND RESISTANCE ». *Evolution* 51 (6): 1886-95. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1997.tb05111.x>.
- Attrill, Helen, Kathleen Falls, Joshua L Goodman, Gillian H Millburn, Giulia Antonazzo, Alix J Rey, et Steven J Marygold. 2016. « FlyBase: establishing a Gene Group resource for *Drosophila melanogaster* ». *Nucleic Acids Research* 44 (D1): D786-92.
- Bachtrog, Doris. 2013. « Y-Chromosome Evolution: Emerging Insights into Processes of Y-Chromosome Degeneration ». *Nature Reviews Genetics* 14 (2): 113-24. <https://doi.org/10.1038/nrg3366>.
- Balakireva, M. D., Yu. Ya. Shevelyov, D. I. Nurminsky, K. J. Livak, et V.A. Gvozdev. 1992. « Structural Organization and Diversification of Y-Linked Sequences Comprising *Su(Ste)* Genes in *Drosophila Melanogaster* ». *Nucleic Acids Research* 20 (14): 3731-36. <https://doi.org/10.1093/nar/20.14.3731>.
- Barbash, D. A., D. F. Siino, A. M. Tarone, et J. Roote. 2003. « A Rapidly Evolving MYB-Related Protein Causes Species Isolation in *Drosophila* ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (9): 5302-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.0836927100>.
- Bastide, Héloïse, Andrea Betancourt, Viola Nolte, Raymond Tobler, Petra Stöbe, Andreas Futschik, et Christian Schlötterer. 2013. « A Genome-Wide, Fine-Scale Map of Natural Pigmentation Variation in *Drosophila Melanogaster* ». *PLoS Genetics* 9 (6): e1003534. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003534>.
- Bastide, Héloïse, Michel Cazemajor, David Ogereau, Nicolas Derome, Frédéric Hospital, et Catherine Montchamp-Moreau. 2011. « Rapid Rise and Fall of Selfish Sex-Ratio X Chromosomes in *Drosophila Simulans*: Spatiotemporal Analysis of Phenotypic and Molecular Data ». *Molecular Biology and Evolution* 28 (9): 2461-70. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr074>.
- Baudry, Emmanuelle, Nicolas Derome, Michèle Huet, et Michel Veuille. 2006. « Contrasted Polymorphism Patterns in a Large Sample of Populations From the Evolutionary Genetics Model *Drosophila Simulans* ». *Genetics* 173 (2): 759-67. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.046250>.

Bibliographie

- Bauer, H., N. Veron, J. Willert, et B. G. Herrmann. 2007. « The T-Complex-Encoded Guanine Nucleotide Exchange Factor Fgd2 Reveals That Two Opposing Signaling Pathways Promote Transmission Ratio Distortion in the Mouse ». *Genes & Development* 21 (2): 143-47. <https://doi.org/10.1101/gad.414807>.
- Bauer, Hermann, Sabrina Schindler, Yves Charron, Jürgen Willert, Barica Kusecek, et Bernhard G. Herrmann. 2012. « The Nucleoside Diphosphate Kinase Gene Nme3 Acts as Quantitative Trait Locus Promoting Non-Mendelian Inheritance ». Édité par Jiri Forejt. *PLoS Genetics* 8 (3): e1002567. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002567>.
- Bauer, Hermann, Jürgen Willert, Birgit Koschorz, et Bernhard G Herrmann. 2005. « The t Complex-Encoded GTPase-Activating Protein Tagap1 Acts as a Transmission Ratio Distorter in Mice ». *Nature Genetics* 37 (9): 969-73. <https://doi.org/10.1038/ng1617>.
- Beavis, WD. 1994. « The power and deceit of QTL experiments: lessons from comparative QTL studies. In: Proceedings of the 49th annual corn & sorghum industry research conference. » *American Seed Trade Association*, 250–266.
- Beckenbach, A. T. 1996. « Selection and the “sex-ratio” polymorphism in natural populations of *Drosophila pseudoobscura* ». *Evolution* 50: 787-94.
- Belfort, Marlene, et Richard P. Bonocora. 2014. « Homing Endonucleases: From Genetic Anomalies to Programmable Genomic Clippers ». *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 1123: 1-26. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-968-0_1.
- Belloni, Massimo, Patrizia Tritto, Maria Pia Bozzetti, Gioacchino Palumbo, et Leonard G. Robbins. 2002. « Does Stellate Cause Meiotic Drive in *Drosophila Melanogaster*? » *Genetics* 161 (4): 1551-59.
- Berlaco, M., L. Fanti, F. Sheen, R. W. Levis, et S. Pimpinelli. 2005. « Heterochromatic Distribution of HeT-A- and TART-like Sequences in Several *Drosophila* Species ». *Cytogenetic and Genome Research* 110 (1-4): 124-33. <https://doi.org/10.1159/000084944>.
- Bernardo Carvalho, A., Leonardo B. Koerich, et Andrew G. Clark. 2009. « Origin and Evolution of Y Chromosomes: *Drosophila* Tales ». *Trends in Genetics: TIG* 25 (6): 270-77. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2009.04.002>.
- Bozzetti, M. P., S. Massari, P. Finelli, F. Meggio, L. A. Pinna, B. Boldyreff, O. G. Issinger, G. Palumbo, C. Ciriaco, et S. Bonaccorsi. 1995. « The Ste Locus, a Component of the Parasitic Cry-Ste System of *Drosophila Melanogaster*, Encodes a Protein That Forms Crystals in Primary Spermatocytes and Mimics Properties of the Beta Subunit of Casein Kinase 2. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92 (13): 6067-71. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.13.6067>.
- Branco, A T, Y Tao, D L Hartl, et B Lemos. 2013. « Natural Variation of the Y Chromosome Suppresses Sex Ratio Distortion and Modulates Testis-Specific Gene Expression in *Drosophila Simulans* ». *Heredity* 111 (1): 8-15. <https://doi.org/10.1038/hdy.2013.5>.
- Brand, Cara L., Amanda M. Larracuenta, et Daven C. Presgraves. 2015. « Origin, Evolution, and Population Genetics of the Selfish *Segregation Distorter* Gene Duplication in European and African Populations of *Drosophila Melanogaster*: EVOLUTION OF THE SELFISH SD COMPLEX ». *Evolution* 69 (5): 1271-83. <https://doi.org/10.1111/evo.12658>.

Bibliographie

- Brashear, Wesley A., Terje Raudsepp, et William J. Murphy. 2018. « Evolutionary Conservation of Y Chromosome Ampliconic Gene Families despite Extensive Structural Variation ». *Genome Research* 28 (12): 1841-51. <https://doi.org/10.1101/gr.237586.118>.
- Bravo Núñez, María Angélica, Jeffrey J. Lange, et Sarah E. Zanders. 2018. « A Suppressor of a Wtf Poison-Antidote Meiotic Driver Acts via Mimicry of the Driver's Antidote ». *PLoS Genetics* 14 (11): e1007836. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007836>.
- Broman, Karl W., Hao Wu, Śaunak Sen, et Gary A. Churchill. 2003. « R/qtl: QTL mapping in experimental crosses ». *Bioinformatics* 19 (7): 889-90. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg112>.
- Buckler, E. S., T. L. Phelps-Durr, C. S. Buckler, R. K. Dawe, J. F. Doebley, et T. P. Holtsford. 1999. « Meiotic Drive of Chromosomal Knobs Reshaped the Maize Genome ». *Genetics* 153 (1): 415-26.
- Burt, A, et R Trivers. 2006. *Genes in Conflict: The Biology of Selfish Genetic Elements*. <http://doi.wiley.com/10.1002/ajhb.20560>.
- Burt, Austin, et Robert Trivers. 2006. *Genes in Conflict: The Biology of Selfish Genetic Elements*. Cambridge,.
- Capy, Pierre, et Patricia Gibert. 2004. « Drosophila Melanogaster, Drosophila Simulans: So Similar yet so Different ». *Genetica* 120 (1-3): 5-16. <https://doi.org/10.1023/b:gene.0000017626.41548.97>.
- Carvalho, A. B. de, et L. B. Klaczko. 1992. « Age and Sex-Ratio Expression in Drosophila Mediopunctata ». *Genetica* 87 (2): 107-11. <https://doi.org/10.1007/BF00121000>.
- Carvalho, A. B., S. C. Vaz, et L. B. Klaczko. 1997. « Polymorphism for Y-Linked Suppressors of Sex-Ratio in Two Natural Populations of Drosophila Mediopunctata ». *Genetics* 146 (3): 891-902.
- Carvalho, Antonio Bernardo de, et Louis Bernard Klaczko. 1993. « Autosomal Suppressors of Sex-Ratio in Drosophila Mediopunctata ». *Heredity* 71 (5): 546-51. <https://doi.org/10.1038/hdy.1993.174>.
- Carvalho, Antonio Bernardo, Beatriz Vicoso, Claudia A. M. Russo, Bonnielin Swenor, et Andrew G. Clark. 2015. « Birth of a New Gene on the Y Chromosome of Drosophila Melanogaster ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (40): 12450-55. <https://doi.org/10.1073/pnas.1516543112>.
- Cazemajor, Michel, Dominique Joly, et Catherine Montchamp-Moreau. 2000. « Sex-ratio meiotic drive in Drosophila simulans is related to equational nondisjunction of the Y chromosome ». *Genetics* 154 (1): 229-36.
- Cazemajor, Michel, Claudie Landre, et Catherine Montchampmoreau. 1997. « The Sex-Ratio Trait in Drosophila simulans: Genetic analysis of Distortion and Suppression ». *Genetics* 642.
- Chang, Ching-Ho, et Amanda M. Larracuenta. 2019. « Heterochromatin-Enriched Assemblies Reveal the Sequence and Organization of the Drosophila Melanogaster Y Chromosome ». *Genetics* 211 (1): 333-48. <https://doi.org/10.1534/genetics.118.301765>.
- Charlesworth, B., J. A. Coyne, et N. H. Barton. 1987. « The Relative Rates of Evolution of Sex

Bibliographie

- Chromosomes and Autosomes ». *The American Naturalist* 130 (1): 113-46.
<https://doi.org/10.1086/284701>.
- Charlesworth, B., et N D Dempsey. 2001. « A model of the evolution of the unusual sex chromosome system of *Microtus oregoni* ». *Heredity* 86 (4): 387-94.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00803.x>.
- Chen, S., Y. E. Zhang, et M. Long. 2010. « New Genes in *Drosophila* Quickly Become Essential ». *Science* 330 (6011): 1682-85. <https://doi.org/10.1126/science.1196380>.
- Chippindale, A. K., et W. R. Rice. 2001. « Y Chromosome Polymorphism Is a Strong Determinant of Male Fitness in *Drosophila Melanogaster* ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98 (10): 5677-82.
<https://doi.org/10.1073/pnas.101456898>.
- Churchill, G A, et R W Doerge. 1994. « Empirical threshold values for quantitative trait mapping. » *Genetics* 138 (3): 963 LP - 971.
- Clark, A. G. 1987. « Natural Selection and Y-Linked Polymorphism ». *Genetics* 115 (3): 569-77.
- . 1990. « Two Tests of Y Chromosomal Variation in Male Fertility of *Drosophila Melanogaster* ». *Genetics* 125 (3): 527-34.
- Cocquet, Julie, Peter J. I. Ellis, Shantha K. Mahadevaiah, Nabeel A. Affara, Daniel Vaiman, et Paul S. Burgoyne. 2012. « A Genetic Basis for a Postmeiotic X Versus Y Chromosome Intragenomic Conflict in the Mouse ». Édité par Michael W. Nachman. *PLoS Genetics* 8 (9): e1002900. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002900>.
- Cocquet, Julie, Peter J. I. Ellis, Yasuhiro Yamauchi, Shantha K. Mahadevaiah, Nabeel A. Affara, Monika A. Ward, et Paul S. Burgoyne. 2009. « The Multicopy Gene *Sly* Represses the Sex Chromosomes in the Male Mouse Germline after Meiosis ». Édité par Nicholas Hastie. *PLoS Biology* 7 (11): e1000244. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000244>.
- Cocquet, Julie, Peter J. I. Ellis, Yasuhiro Yamauchi, Jonathan M. Riel, Thomas P. S. Karacs, Áine Rattigan, Obah A. Ojarikre, Nabeel A. Affara, Monika A. Ward, et Paul S. Burgoyne. 2010. « Deficiency in the Multicopy *Sycp3* -Like X-Linked Genes *Slx* and *Slx11* Causes Major Defects in Spermatid Differentiation ». Édité par Julie Brill. *Molecular Biology of the Cell* 21 (20): 3497-3505. <https://doi.org/10.1091/mbc.e10-07-0601>.
- Colomé-Tatché, Maria, et Frank Johannes. 2016. « Signatures of Dobzhansky–Muller Incompatibilities in the Genomes of Recombinant Inbred Lines ». *Genetics* 202 (2): 825-41. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.179473>.
- Corbett-Detig, Russell B., Jun Zhou, Andrew G. Clark, Daniel L. Hartl, et Julien F. Ayroles. 2013. « Genetic Incompatibilities Are Widespread within Species ». *Nature* 504 (7478): 135-37. <https://doi.org/10.1038/nature12678>.
- Courret, Cécile, Pierre R. Gérard, David Ogereau, Matthieu Falque, Laurence Moreau, et Catherine Montchamp-Moreau. 2019. « X-Chromosome Meiotic Drive in *Drosophila Simulans*: A QTL Approach Reveals the Complex Polygenic Determinism of Paris Drive Suppression ». *Heredity* 122 (6): 906-15. <https://doi.org/10.1038/s41437-018-0163-1>.
- Craig, G. B., W. A. Hickey, et R. C. VandeHey. 1960. « An Inherited Male-Producing Factor in

Bibliographie

- Aedes Aegypti ». *Science* 132 (3443): 1887-89.
<https://doi.org/10.1126/science.132.3443.1887>.
- David, Jean. 1962. « A new medium for rearing *Drosophila* in axenic condition. » *Drosophila Information Service* 36: 128.
- Dawe, R. Kelly, Elizabeth G. Lowry, Jonathan I. Gent, Michelle C. Stitzer, Kyle W. Swentowsky, David M. Higgins, Jeffrey Ross-Ibarra, et al. 2018. « A Kinesin-14 Motor Activates Neocentromeres to Promote Meiotic Drive in Maize ». *Cell* 173 (4): 839-850.e18.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.009>.
- Denell, R. E., B. H. Judd, et R. H. Richardson. 1969. « Distorted Sex Ratios Due to Segregation Distorter in *Drosophila Melanogaster* ». *Genetics* 61 (1): 129-39.
- Dernburg, A. F. 2000. « In Situ Hybridization to Somatic Chromosomes in *Drosophila* ». *Cold Spring Harbor Protocols* 2000 (9): pdb.top065540-pdb.top065540.
<https://doi.org/10.1101/pdb.top065540>.
- Dobrovolskaia-Zavadskaia, N, et N Koboziëff. 1927. « Sur la reproduction des souris anoures. » *Comptes Rendus Séances Société de Biologie et de ses Filiales*, no 97: 116–119.
- Dobzhansky, T., et A. H. Sturtevant. 1938. « Inversions in the Chromosomes of *Drosophila Pseudoobscura* ». *Genetics* 23 (1): 28-64.
- Dyer, K. A., B. Charlesworth, et J. Jaenike. 2007. « Chromosome-Wide Linkage Disequilibrium as a Consequence of Meiotic Drive ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104 (5): 1587-92. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605578104>.
- Ellison, Christopher, et Doris Bachtrog. 2019. « Recurrent Gene Co-Amplification on *Drosophila* X and Y Chromosomes ». Édité par Harmit S. Malik. *PLOS Genetics* 15 (7): e1008251.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008251>.
- Faulhaber, S. H. 1967. « An Abnormal Sex Ratio in *Drosophila Simulans* ». *Genetics* 56 (1): 189-213.
- Finseth, Findley R., Yuzhu Dong, Arpiar Saunders, et Lila Fishman. 2015. « Duplication and Adaptive Evolution of a Key Centromeric Protein in *Mimulus*, a Genus with Female Meiotic Drive ». *Molecular Biology and Evolution* 32 (10): 2694-2706.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msv145>.
- Fisher RA. 1930. « The genetical theory of natural selection. » *Oxford University Press, Oxford*.
- Fishman, L., et A. Saunders. 2008. « Centromere-Associated Female Meiotic Drive Entails Male Fitness Costs in Monkeyflowers ». *Science* 322 (5907): 1559-62.
<https://doi.org/10.1126/science.1161406>.
- Fishman, Lila, et John K. Kelly. 2015. « Centromere-Associated Meiotic Drive and Female Fitness Variation in *Mimulus*: FEMALE FITNESS COSTS OF MEIOTIC DRIVE ». *Evolution* 69 (5): 1208-18. <https://doi.org/10.1111/evo.12661>.
- Fishman, Lila, et John H. Willis. 2005. « A Novel Meiotic Drive Locus Almost Completely Distorts Segregation in *Mimulus* (Monkeyflower) Hybrids ». *Genetics* 169 (1): 347-53.
<https://doi.org/10.1534/genetics.104.032789>.

Bibliographie

- Fouvry, Lucie, David Ogereau, Anne Berger, Frederick Gavory, et Catherine Montchamp-Moreau. 2011. « Sequence Analysis of the Segmental Duplication Responsible for Paris & Sex-Ratio Drive in *Drosophila simulans* »; Édité par K S McKim. *G3: Genes/Genomes/Genetics* 1 (5): 401 LP - 410.
- Francisco, Flávio O., et Bernardo Lemos. 2014. « How Do Y-Chromosomes Modulate Genome-Wide Epigenetic States: Genome Folding, Chromatin Sinks, and Gene Expression ». *Journal of Genomics* 2: 94-103. <https://doi.org/10.7150/jgen.8043>.
- Frank, Steven A. 1991. « Divergence of Meiotic Drive-Suppression Systems as an Explanation for Se-Biased Hybrid Sterility and Inviability ». *Evolution* 45 (2): 262-67. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1991.tb04401.x>.
- Garrigan, D., S. B. Kingan, A. J. Geneva, P. Andolfatto, A. G. Clark, K. R. Thornton, et D. C. Presgraves. 2012. « Genome Sequencing Reveals Complex Speciation in the *Drosophila Simulans* Clade ». *Genome Research* 22 (8): 1499-1511. <https://doi.org/10.1101/gr.130922.111>.
- Gell, Selena L., et Robert A. Reenan. 2013. « Mutations to the PiRNA Pathway Component *Aubergine* Enhance Meiotic Drive of Segregation Distorter in *Drosophila Melanogaster* ». *Genetics* 193 (3): 771-84. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.147561>.
- Gershenson, S. 1928. « A New Sex-Ratio Abnormality in *Drosophila obscura* ». *Genetics* 13: 488-507.
- Gloor, G, et W Engles. 1992. « Single-Fly DNA Preps for PCR ». *Drosophila Information Service* 71: 148-49.
- Gordo, Isabel, Arcadio Navarro, et Brian Charlesworth. 2002. « Muller's Ratchet and the Pattern of Variation at a Neutral Locus ». *Genetics* 161 (2): 835-48.
- Hall, David W. 2004. « MEIOTIC DRIVE AND SEX CHROMOSOME CYCLING ». *Evolution* 58 (5): 925-31. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2004.tb00426.x>.
- Hamilton, W D. 1967. « Extraordinary Sex Ratios ». *Science* 156: 477-88.
- Hammer, M F, et L M Silver. 1993. « Phylogenetic analysis of the alpha-globin pseudogene-4 (Hba-ps4) locus in the house mouse species complex reveals a stepwise evolution of t haplotypes. » *Molecular Biology and Evolution* 10 (5): 971-1001. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040051>.
- Handler, Dominik, Katharina Meixner, Manfred Pizka, Kathrin Lauss, Christopher Schmied, Franz Sebastian Gruber, et Julius Brennecke. 2013. « The Genetic Makeup of the *Drosophila* PiRNA Pathway ». *Molecular Cell* 50 (5): 762-77. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.04.031>.
- Hartl, D. L. 1974. « Genetic Dissection of Segregation Distortion. I. Suicide Combinations of SD Genes ». *Genetics* 76 (3): 477-86.
- Hartl, D. L., Y. Hiraizumi, et J. F. Crow. 1967. « Evidence for Sperm Dysfunction as the Mechanism of Segregation Distortion in *Drosophila Melanogaster*. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 58 (6): 2240-45. <https://doi.org/10.1073/pnas.58.6.2240>.
- Hauschteck-Jungen, E. 1990. « Postmating reproductive isolation and modification of the 'sex ratio'

Bibliographie

- trait in *Drosophila subobscura* induced by the sex chromosome gene arrangement A2+3+5+7 ». *Genetica*, no 83: 31-44.
- Hauschteck-Jungen, E., et D. L. Hartl. 1982. « Defective Histone Transition during Spermiogenesis in Heterozygous Segregation Distorter Males of *Drosophila Melanogaster* ». *Genetics* 101 (1): 57-69.
- Hauschteck-Jungen, E, H Jungen, et M Muller. 1972. « Karyotype and meiosis in wild and sex-ratio *Drosophila melanogaster* males ». *Rev Suisse Zool*, 297-305.
- Hauschteck-Jungen, E., et B. Maurer. 1976. « Sperm Dysfunction in Sex Ratio Males of *Drosophila Subobscura* ». *Genetica* 46 (4): 459-77. <https://doi.org/10.1007/BF00128092>.
- Helleu, Q., C. Courret, D. Ogereau, K. L. Burnham, N. Chaminade, M. Chakir, S. Aulard, et C. Montchamp-Moreau. 2019. « Sex-Ratio Meiotic Drive Shapes the Evolution of the Y Chromosome in *Drosophila Simulans* ». *Molecular Biology and Evolution*, juillet. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz160>.
- Helleu, Quentin, Pierre R Gérard, Raphaëlle Dubruille, David Ogereau, Benjamin Prud'homme, Benjamin Loppin, et Catherine Montchamp-Moreau. 2016. « Rapid evolution of a Y-chromosome heterochromatin protein underlies sex chromosome meiotic drive ». *PNAS* 113 (15): 4110-15. <https://doi.org/10.1073/pnas.1519332113>.
- Helleu, Quentin, Pierre R. GÉRard, et Catherine Montchamp-Moreau. 2015. « Sex chromosome drive ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7 (2). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a017616>.
- Henahan, Julie, et Gary Cobbs. 1983. « Origin of X/O Progeny from Crosses of Sex-Ratio Trait Males of *Drosophila Pseudoobscura* ». *Journal of Heredity* 74 (3): 145-48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a109752>.
- Henikoff, S. 2001. « The Centromere Paradox: Stable Inheritance with Rapidly Evolving DNA ». *Science* 293 (5532): 1098-1102. <https://doi.org/10.1126/science.1062939>.
- Henikoff, Steven. 1996. « Dosage-Dependent Modification of Position-Effect Variegation In *Drosophila* ». *BioEssays* 18 (5): 401-9. <https://doi.org/10.1002/bies.950180510>.
- Herrmann, B. 1986. « Genetic Analysis of the Proximal Portion of the Mouse t Complex: Evidence for a Second Inversion within t Haplotypes ». *Cell* 44 (3): 469-76. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(86\)90468-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(86)90468-X).
- Herrmann, Bernhard G., Hermann Bauer, et Jaroslav Pialek. 2012. « The mouse t-haplotype ». In *Evolution of the House Mouse*, par Jaroslav Pialek, édité par Milos Macholan, Stuart J. E. Baird, et Pavel Munclinger, 297-314. Cambridge: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139044547.014>.
- Herrmann, Bernhard G., Birgit Koschorz, Karin Wertz, K. John McLaughlin, et Andreas Kispert. 1999. « A Protein Kinase Encoded by the t Complex Responder Gene Causes Non-Mendelian Inheritance ». *Nature* 402 (6758): 141-46. <https://doi.org/10.1038/45970>.
- Hiatt, Evelyn N., et R. Kelly Dawe. 2003. « Four Loci on Abnormal Chromosome 10 Contribute to Meiotic Drive in Maize ». *Genetics* 164 (2): 699-709.
- Hiatt, Evelyn N., Edward K. Kentner, et R. Kelly Dawe. 2002. « Independently Regulated

Bibliographie

- Neocentromere Activity of Two Classes of Tandem Repeat Arrays ». *The Plant Cell* 14 (2): 407-20. <https://doi.org/10.1105/tpc.010373>.
- Hickey, W. A., et G. B. Craig. 1966. « Genetic Distortion of Sex Ratio in a Mosquito, *Aedes Aegypti* ». *Genetics* 53 (6): 1177-96.
- Hihara, Yukiko K. 1974. « Genetic analysis of modifying system of segregation distortion in *Drosophila melanogaster* ». *The Japanese journal of genetics* 49 (4): 209-22. <https://doi.org/10.1266/jjg.49.209>.
- Hill, Tom, Christian Schlotterer, et Andrea J. Betancourt. 2016. « Hybrid Dysgenesis in *Drosophila Simulans* Associated with a Rapid Invasion of the P-Element ». *PLoS Genetics* 12 (3): e1005920. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005920>.
- Hiraizumi, Y. 1993. « Temperature Sensitivity of Negative Segregation Distortion in *Drosophila Melanogaster* ». *Genetics* 135 (3): 831-41.
- Hiraizumi, Y., D. W. Martin, et I. A. Eckstrand. 1980. « A Modified Model of Segregation Distortion in *DROSOPHILA MELANOGASTER* ». *Genetics* 95 (3): 693-706.
- Hiraizumi, Y., et S. S. Watanabe. 1969. « Aging Effect on the Phenomenon of Segregation Distortion in *Drosophila Melanogaster* ». *Genetics* 63 (1): 121-31.
- Hiraizumi, Yuichiro, et Anita M Thomas. 1984. « SUPPRESSOR SYSTEMS OF SEGREGATION DISTORTER (SD) CHROMOSOMES IN NATURAL POPULATIONS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* ». *Genetics* 106 (2): 279 LP - 292.
- Hoskins, Roger A., Joseph W. Carlson, Kenneth H. Wan, Soo Park, Ivonne Mendez, Samuel E. Galle, Benjamin W. Booth, et al. 2015. « The Release 6 Reference Sequence of the *Drosophila Melanogaster* Genome ». *Genome Research* 25 (3): 445-58. <https://doi.org/10.1101/gr.185579.114>.
- Hoskins, Roger A., Christopher D. Smith, Joseph W. Carlson, A. Bernardo Carvalho, Aaron Halpern, Joshua S. Kaminker, Cameron Kennedy, et al. 2002. « Heterochromatic Sequences in a *Drosophila* Whole-Genome Shotgun Assembly ». *Genome Biology* 3 (12): RESEARCH0085. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-12-research0085>.
- Hurst, L. D. 1996. « Further Evidence Consistent with Stellate's Involvement in Meiotic Drive ». *Genetics* 142 (2): 641-43.
- Hurst, L. D., et A. Pomiankowski. 1991. « Causes of Sex Ratio Bias May Account for Unisexual Sterility in Hybrids: A New Explanation of Haldane's Rule and Related Phenomena ». *Genetics* 128 (4): 841-58.
- Huttunen, Susanna, et Jouni Aspi. 2003. « [No title found] ». *Behavior Genetics* 33 (1): 17-24. <https://doi.org/10.1023/A:1021095331850>.
- Iwata-Otsubo, Aiko, Jennine M. Dawicki-McKenna, Takashi Akera, Samantha J. Falk, Lukáš Chmátal, Karren Yang, Beth A. Sullivan, Richard M. Schultz, Michael A. Lampson, et Ben E. Black. 2017. « Expanded Satellite Repeats Amplify a Discrete CENP-A Nucleosome Assembly Site on Chromosomes That Drive in Female Meiosis ». *Current Biology* 27 (15): 2365-2373.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.06.069>.
- Jaenike, John. 1999. « Suppression of Sex-Ratio Meiotic Drive and the Maintenance of Y-

Bibliographie

- Chromosome Polymorphism in *Drosophila*. » *Evolution; International Journal of Organic Evolution* 53 (1): 164-74. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1999.tb05342.x>.
- . 2001. « Sex Chromosome Meiotic Drive ». *Annual Review of Ecology and Systematics* 32 (1): 25-49. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.113958>.
- James, A. C., et J. Jaenike. 1990. « “Sex Ratio” Meiotic Drive in *Drosophila Testacea* ». *Genetics* 126 (3): 651-56.
- Joppich, Christian, Sabrina Scholz, Günter Korge, et Alexander Schwendemann. 2009. « Umbrea, a Chromo Shadow Domain Protein in *Drosophila Melanogaster* Heterochromatin, Interacts with Hip, HP1 and HOAP ». *Chromosome Research* 17 (1): 19-36. <https://doi.org/10.1007/s10577-008-9002-1>.
- Jungen, H. 1968. « Sex ratio in natural populations of *Drosophila subobscura* ». *Archiv der Julius Klaus-Stiftung für Vererbungsforschung, Sozialanthropologie und Rassenhygiene*, no 43: 52-57.
- Jutier, D., N. Derome, et C. Montchamp-Moreau. 2004. « The Sex-Ratio Trait and Its Evolution in *Drosophila Simulans*: A Comparative Approach ». *Genetica* 120 (1-3): 87-99.
- Katoh, K. 2002. « MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform ». *Nucleic Acids Research* 30 (14): 3059-66. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf436>.
- Keais, G. L., M. A. Hanson, B. E. Gowen, et S. J. Perlman. 2017. « X chromosome drive in a widespread Palearctic woodland fly, *Drosophila testacea* ». *Journal of Evolutionary Biology* 30 (6): 1185-94. <https://doi.org/10.1111/jeb.13089>.
- Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, et al. 2012. « Geneious Basic: An Integrated and Extendable Desktop Software Platform for the Organization and Analysis of Sequence Data ». *Bioinformatics* 28 (12): 1647-49. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>.
- Kennison, J. A. 1981. « The Genetic and Cytological Organization of the Y Chromosome of *DROSOPHILA MELANOGASTER* ». *Genetics* 98 (3): 529-48.
- Kingan, Sarah B., Daniel Garrigan, et Daniel L. Hartl. 2010. « Recurrent Selection on the Winters *Sex-Ratio* Genes in *Drosophila Simulans* ». *Genetics* 184 (1): 253-65. <https://doi.org/10.1534/genetics.109.109587>.
- Klattenhoff, Carla, Hualin Xi, Chengjian Li, Soohyun Lee, Jia Xu, Jaspreet S. Khurana, Fan Zhang, et al. 2009. « The *Drosophila* HP1 Homolog Rhino Is Required for Transposon Silencing and PiRNA Production by Dual-Strand Clusters ». *Cell* 138 (6): 1137-49. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.07.014>.
- Kogan, Galina L., Vitalii N. Epstein, Alexei A. Aravin, et Vladimir A. Gvozdev. 2000. « Molecular Evolution of Two Paralogous Tandemly Repeated Heterochromatic Gene Clusters Linked to the X and Y Chromosomes of *Drosophila Melanogaster* ». *Molecular Biology and Evolution* 17 (5): 697-702. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026348>.
- Kopp, Artyom, Amanda Frank, et Jeffrey Fu. 2006. « Historical Biogeography of *Drosophila Simulans* Based on Y-Chromosomal Sequences ». *Molecular Phylogenetics and Evolution*

Bibliographie

- 38 (2): 355-62. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.06.006>.
- Kopytova, Daria V., Aleksey N. Krasnov, Marina R. Kopantceva, Elena N. Nabirochkina, Julia V. Nikolenko, Oksana Maksimenko, Maria M. Kurshakova, et al. 2006. « Two Isoforms of *Drosophila* TRF2 Are Involved in Embryonic Development, Premeiotic Chromatin Condensation, and Proper Differentiation of Germ Cells of Both Sexes ». *Molecular and Cellular Biology* 26 (20): 7492-7505. <https://doi.org/10.1128/MCB.00349-06>.
- Kumar, Sudhir, Glen Stecher, Michael Li, Christina Knyaz, et Koichiro Tamura. 2018. « MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms ». Édité par Fabia Ursula Battistuzzi. *Molecular Biology and Evolution* 35 (6): 1547-49. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>.
- Kusano, A., C. Staber, et B. Ganetzky. 2002. « Segregation Distortion Induced by Wild-Type RanGAP in *Drosophila* ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (10): 6866-70. <https://doi.org/10.1073/pnas.102165099>.
- Kusano, Ayumi, Cynthia Staber, et Barry Ganetzky. 2001. « Nuclear Mislocalization of Enzymatically Active RanGAP Causes Segregation Distortion in *Drosophila* ». *Developmental Cell* 1 (3): 351-61. [https://doi.org/10.1016/S1534-5807\(01\)00042-9](https://doi.org/10.1016/S1534-5807(01)00042-9).
- Lachaise, Daniel, Jean R. David, Françoise Lemeunier, Leonidas Tsacas, et Michael Ashburner. 1986. « THE REPRODUCTIVE RELATIONSHIPS OF *DROSOPHILA SEHELLIA* WITH *D. MAURITIANA*, *D. SIMULANS*, AND *D. MELANOGASTER* FROM THE AFROTROPICAL REGION ». *Evolution; International Journal of Organic Evolution* 40 (2): 262-71. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1986.tb00468.x>.
- Lachaise, Daniel, et Jean-François Silvain. 2004. « How Two Afrotropical Endemics Made Two Cosmopolitan Human Commensals: The *Drosophila Melanogaster*-*D. Simulans* Palaeogeographic Riddle ». *Genetica* 120 (1-3): 17-39. <https://doi.org/10.1023/b:gene.0000017627.27537.ef>.
- Larracuente, Amanda M. 2014. « The Organization and Evolution of the Responder Satellite in Species of the *Drosophila Melanogaster* Group: Dynamic Evolution of a Target of Meiotic Drive ». *BMC Evolutionary Biology* 14 (1): 233. <https://doi.org/10.1186/s12862-014-0233-9>.
- Larracuente, Amanda M., et Andrew G. Clark. 2013. « Surprising Differences in the Variability of Y Chromosomes in African and Cosmopolitan Populations of *Drosophila Melanogaster* ». *Genetics* 193 (1): 201-14. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.146167>.
- Larracuente, Amanda M., et Daven C. Presgraves. 2012. « The Selfish Segregation Distorter Gene Complex of *Drosophila Melanogaster* ». *Genetics* 192 (1): 33-53. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.141390>.
- Le Sage, Valerie, et Andrew Mouland. 2013. « Viral Subversion of the Nuclear Pore Complex ». *Viruses* 5 (8): 2019-42. <https://doi.org/10.3390/v5082019>.
- Legrand, D., T. Chenel, C. Campagne, D. Lachaise, et M.-L. Cariou. 2011. « Inter-Island Divergence within *Drosophila Mauritiana*, a Species of the *D. Simulans* Complex: Past History and/or Speciation in Progress?: HIGH GENETIC DIVERGENCE WITHIN *DROSOPHILA MAURITIANA* ». *Molecular Ecology* 20 (13): 2787-2804. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05127.x>.

Bibliographie

- Legrand, Delphine, Dominique Vautrin, Daniel Lachaise, et Marie-Louise Cariou. 2011. « Microsatellite Variation Suggests a Recent Fine-Scale Population Structure of *Drosophila Sechellia*, a Species Endemic of the Seychelles Archipelago ». *Genetica* 139 (7): 909-19. <https://doi.org/10.1007/s10709-011-9595-8>.
- Lemos, B., L. O. Araripe, et D. L. Hartl. 2008. « Polymorphic Y Chromosomes Harbor Cryptic Variation with Manifold Functional Consequences ». *Science* 319 (5859): 91-93. <https://doi.org/10.1126/science.1148861>.
- Lemos, Bernardo, Alan T. Branco, et Daniel L. Hartl. 2010. « Epigenetic Effects of Polymorphic Y Chromosomes Modulate Chromatin Components, Immune Response, and Sexual Conflict ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (36): 15826-31. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010383107>.
- Levine, Mia T., Connor McCoy, Danielle Vermaak, Yuh Chwen G. Lee, Mary Alice Hiatt, Frederick A. Matsen, et Harmit S. Malik. 2012. « Phylogenomic Analysis Reveals Dynamic Evolutionary History of the *Drosophila* Heterochromatin Protein 1 (HP1) Gene Family ». Édité par Corbin D. Jones. *PLoS Genetics* 8 (6): e1002729. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002729>.
- Levine, Mia T., Helen M. Vander Wende, Emily Hsieh, EmilyClare P. Baker, et Harmit S. Malik. 2016. « Recurrent Gene Duplication Diversifies Genome Defense Repertoire in *Drosophila* ». *Molecular Biology and Evolution* 33 (7): 1641-53. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw053>.
- Lewis, S. H., C. L. Webster, H. Salmela, et D. J. Obbard. 2016. « Repeated Duplication of Argonaute2 Is Associated with Strong Selection and Testis Specialization in *Drosophila* ». *Genetics* 204 (2): 757-69. <https://doi.org/10.1534/genetics.116.192336>.
- Li, Heng, Bob Handsaker, Alec Wysoker, Tim Fennell, Jue Ruan, Nils Homer, Gabor Marth, Goncalo Abecasis, et Richard Durbin. 2009. « The Sequence Alignment/Map format and SAMtools ». *Bioinformatics* 25 (16): 2078-79.
- Lin, Ching-Jung, Fuqu Hu, Raphaele Dubruille, Jeffrey Vedanayagam, Jiayu Wen, Peter Smibert, Benjamin Loppin, et Eric C. Lai. 2018. « The HpRNA/RNAi Pathway Is Essential to Resolve Intragenomic Conflict in the *Drosophila* Male Germline ». *Developmental Cell* 46 (3): 316-326.e5. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.07.004>.
- Lindholm, Anna K., Kelly A. Dyer, Renée C. Firman, Lila Fishman, Wolfgang Forstmeier, Luke Holman, Hanna Johannesson, et al. 2016. « The Ecology and Evolutionary Dynamics of Meiotic Drive ». *Trends in Ecology & Evolution* 31 (4): 315-26. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.02.001>.
- Lindholm, Anna K., Kerstin Musolf, Andrea Weidt, et Barbara König. 2013. « Mate Choice for Genetic Compatibility in the House Mouse ». *Ecology and Evolution* 3 (5): 1231-47. <https://doi.org/10.1002/ece3.534>.
- Lohe, A. R., et P. A. Roberts. 1990. « An Unusual Y Chromosome of *Drosophila Simulans* Carrying Amplified RDNA Spacer without RRNA Genes ». *Genetics* 125 (2): 399-406.
- López Hernández, José Fabricio, et Sarah E. Zanders. 2018. « Veni, Vidi, Vici: The Success of Wtf Meiotic Drivers in Fission Yeast ». *Yeast (Chichester, England)* 35 (7): 447-53. <https://doi.org/10.1002/yea.3305>.

Bibliographie

- Lucotte, Elise A., Laurits Skov, Jacob Malte Jensen, Moisés Coll Macià, Kasper Munch, et Mikkel H. Schierup. 2018. « Dynamic Copy Number Evolution of X- and Y-Linked Ampliconic Genes in Human Populations ». *Genetics*, mai, genetics.300826.2018. <https://doi.org/10.1534/genetics.118.300826>.
- Lyckegaard, E. M., et A. G. Clark. 1989. « Ribosomal DNA and Stellate Gene Copy Number Variation on the Y Chromosome of *Drosophila Melanogaster*. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 86 (6): 1944-48. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.6.1944>.
- Lyon, Mary F. 2003. « Transmission Ratio Distortion in Mice ». *Annual Review of Genetics* 37 (1): 393-408. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.37.110801.143030>.
- Lyttle, T. W. 1989. « The Effect of Novel Chromosome Position and Variable Dose on the Genetic Behavior of the Responder (Rsp) Element of the Segregation Distorter (SD) System of *Drosophila Melanogaster* ». *Genetics* 121 (4): 751-63.
- Lyttle, Terrence W. 1979. « EXPERIMENTAL POPULATION GENETICS OF MEIOTIC DRIVE SYSTEMS II. ACCUMULATION OF GENETIC MODIFIERS OF SEGREGATION DISTORTER (SD) IN LABORATORY POPULATIONS ». *Genetics* 91 (2): 339 LP - 357.
- . 1991. « Segregation Distorters ». *Annual Review of Genetics* 25 (1): 511-81. <https://doi.org/10.1146/annurev.ge.25.120191.002455>.
- Mahajan, Shivani, Kevin H.-C. Wei, Matthew J. Nalley, Lauren Gibilisco, et Doris Bachtrog. 2018. « De Novo Assembly of a Young *Drosophila* Y Chromosome Using Single-Molecule Sequencing and Chromatin Conformation Capture ». Édité par Chris Tyler-Smith. *PLOS Biology* 16 (7): e2006348. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2006348>.
- Mahowald, A. P., and M. P. Kambyzellis. 1980. « Oogenesis ». In *The Genetics and Biology of Drosophila*, 141–224.
- Malik, Harmit S., et Steven Henikoff. 2009. « Major Evolutionary Transitions in Centromere Complexity ». *Cell* 138 (6): 1067-82. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.08.036>.
- Mange, E. J. 1968. « Temperature Sensitivity of Segregation-Distortion in *Drosophila Melanogaster* ». *Genetics* 58 (3): 399-413.
- Manser, Andri, Anna K. Lindholm, Barbara König, et Homayoun C. Bagheri. 2011. « Polyandry and the Decrease of a Selfish Genetic Element in a Wild House Mouse Population ». *Evolution; International Journal of Organic Evolution* 65 (9): 2435-47. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2011.01336.x>.
- Manser, Andri, Anna K. Lindholm, Leigh W. Simmons, et Renée C. Firman. 2017. « Sperm Competition Suppresses Gene Drive among Experimentally Evolving Populations of House Mice ». *Molecular Ecology* 26 (20): 5784-92. <https://doi.org/10.1111/mec.14215>.
- Manser, Andri, Anna K. Lindholm, et Franz J. Weissing. 2017. « The Evolution of Costly Mate Choice against Segregation Distorters ». *Evolution; International Journal of Organic Evolution* 71 (12): 2817-28. <https://doi.org/10.1111/evo.13376>.
- Matthews, Kathleen, et Mark A. Mortin. 1983. « SD-72 Has a Temperature-Sensitive Period during Spermiogenesis ». *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 25 (6): 662-67.

Bibliographie

<https://doi.org/10.1139/g83-097>.

- Mcdermott, S. R., et M. A. F. Noor. 2012. « Mapping of Within-Species Segregation Distortion in *Drosophila Persimilis* and Hybrid Sterility between *D. Persimilis* and *D. Pseudoobscura* ». *Journal of Evolutionary Biology* 25 (10): 2023-32. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02581.x>.
- McDermott, Shannon R., et Mohamed A. F. Noor. 2010. « The Role of Meiotic Drive in Hybrid Male Sterility ». *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365 (1544): 1265-72. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0264>.
- McKenna, Aaron, Matthew Hanna, Eric Banks, Andrey Sivachenko, Kristian Cibulskis, Andrew Kernytsky, Kiran Garimella, et al. 2010. « The Genome Analysis Toolkit: A MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data ». *Genome Research* 20 (9): 1297-1303. <https://doi.org/10.1101/gr.107524.110>.
- Meiklejohn, Colin D, Emily L Landeen, Kathleen E Gordon, Thomas Rzatkiwicz, Sarah B Kingan, Anthony J Geneva, Jeffrey P Vedanayagam, et al. 2018. « Gene Flow Mediates the Role of Sex Chromosome Meiotic Drive during Complex Speciation ». *ELife* 7 (décembre): e35468. <https://doi.org/10.7554/eLife.35468>.
- Meiklejohn, Colin D., et Yun Tao. 2010. « Genetic Conflict and Sex Chromosome Evolution ». *Trends in Ecology & Evolution* 25 (4): 215-23. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.10.005>.
- Merçot, H., B. Llorente, M. Jacques, A. Atlan, et C. Montchamp-Moreau. 1995. « Variability within the Seychelles Cytoplasmic Incompatibility System in *Drosophila Simulans* ». *Genetics* 141 (3): 1015-23.
- Merçot, Hervé, et Sylvain Charlat. 2004. « Wolbachia Infections in *Drosophila Melanogaster* and *D. Simulans*: Polymorphism and Levels of Cytoplasmic Incompatibility ». *Genetica* 120 (1-3): 51-59. <https://doi.org/10.1023/b:gene.0000017629.31383.8f>.
- Merrill, C. 1999. « Truncated RanGAP Encoded by the Segregation Distorter Locus of *Drosophila* ». *Science* 283 (5408): 1742-45. <https://doi.org/10.1126/science.283.5408.1742>.
- Montchamp-Moreau, Catherine, et Michel Cazemajor. 2002. « Sex-Ratio Drive in *Drosophila Simulans*: Variation in Segregation Ratio of X Chromosomes from a Natural Population ». *Genetics* 162 (3): 1221-31.
- Montchamp-Moreau, Catherine, Valérie Ginhoux, et Anne Atlan. 2001. « The Y Chromosomes of *Drosophila Simulans* Are Highly Polymorphic for Their Ability to Suppress Sex-Ratio Drive. » *Evolution* 55 (4): 728-37. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb00809.x>.
- Montchamp-Moreau, Catherine, David Ogereau, Nicole Chaminade, Alexandre Colard, et Sylvie Aulard. 2006. « Organization of the sex-ratio meiotic drive region in *Drosophila simulans* ». *Genetics* 174 (3): 1365-71. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.051755>.
- Morgan, TH, CB Bridges, et AH Sturtevant. 1925. *The genetics of Drosophila*. Bibliogr Genet. Vol. 2.
- Morgunova, Valeriya, Natalia Akulenko, Elizaveta Radion, Ivan Olovnikov, Yuri Abramov, Ludmila V. Olenina, Sergey Shpiz, Daria V. Kopytova, Sofia G. Georgieva, et Alla Kalmykova. 2015. « Telomeric Repeat Silencing in Germ Cells Is Essential for Early

Bibliographie

- Development in *Drosophila* ». *Nucleic Acids Research* 43 (18): 8762-73.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkv775>.
- Muerdter, Felix, Paloma M. Guzzardo, Jesse Gillis, Yicheng Luo, Yang Yu, Caifu Chen, Richard Fekete, et Gregory J. Hannon. 2013. « A Genome-Wide RNAi Screen Draws a Genetic Framework for Transposon Control and Primary PiRNA Biogenesis in *Drosophila* ». *Molecular Cell* 50 (5): 736-48. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.04.006>.
- Nam, Kiwoong, Kasper Munch, Asger Hobolth, Julien Yann Dutheil, Krishna R. Veeramah, August E. Woerner, Michael F. Hammer, Great Ape Genome Diversity Project, Thomas Mailund, et Mikkel Heide Schierup. 2015. « Extreme Selective Sweeps Independently Targeted the X Chromosomes of the Great Apes ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (20): 6413-18. <https://doi.org/10.1073/pnas.1419306112>.
- Nei, M., et W. H. Li. 1979. « Mathematical Model for Studying Genetic Variation in Terms of Restriction Endonucleases. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76 (10): 5269-73. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.10.5269>.
- Newton, M. E., R. J. Wood, et D. I. Southern. 1976. « A Cytogenetic Analysis of Meiotic Drive in the Mosquito, *Aedes Aegypti* (L.) ». *Genetica* 46 (3): 297-318.
<https://doi.org/10.1007/BF00055473>.
- Novitski, E., W. J. Peacock, et J. Engel. 1965. « Cytological Basis of “Sex Ratio” in *Drosophila Pseudoobscura* ». *Science* 148 (3669): 516-17.
<https://doi.org/10.1126/science.148.3669.516>.
- Nuckolls, Nicole L., María Angélica Bravo Núñez, Michael T. Eickbush, Janet M. Young, Jeffrey J. Lange, Jonathan S. Yu, Gerald R. Smith, Sue L. Jaspersen, Harmit S. Malik, et Sarah E. Zanders. 2017. « Wtf Genes Are Prolific Dual Poison-Antidote Meiotic Drivers ». *eLife* 6: 1-22. <https://doi.org/10.7554/eLife.26033>.
- Orr, H. Allen, et Shannon Irving. 2005. « Segregation Distortion in Hybrids Between the Bogota and USA Subspecies of *Drosophila Pseudoobscura* ». *Genetics* 169 (2): 671-82.
<https://doi.org/10.1534/genetics.104.033274>.
- Palumbo, G., S. Bonaccorsi, L. G. Robbins, et S. Pimpinelli. 1994. « Genetic Analysis of Stellate Elements of *Drosophila Melanogaster* ». *Genetics* 138 (4): 1181-97.
- Pardo-Manuel de Villena, F., et C. Sapienza. 2001. « Female Meiosis Drives Karyotypic Evolution in Mammals ». *Genetics* 159 (3): 1179-89.
- Parikh, Rasesh Y., Haifan Lin, et Vamsi K. Gangaraju. 2018. « A Critical Role for Nucleoporin 358 (Nup358) in Transposon Silencing and PiRNA Biogenesis in *Drosophila* ». *Journal of Biological Chemistry* 293 (24): 9140-47. <https://doi.org/10.1074/jbc.AC118.003264>.
- Peacock, W. J., K.T. Tokuyasu, et R.W. Hardy. 1972. « Spermiogenesis and meiotic drive in *Drosophila* ». In , 247-68. R. A. Beatty and S. Gluecksohn-Waelsch.
- Phadnis, Nitin. 2011. « Genetic Architecture of Male Sterility and Segregation Distortion in *Drosophila Pseudoobscura* Bogota–USA Hybrids ». *Genetics* 189 (3): 1001-9.
<https://doi.org/10.1534/genetics.111.132324>.
- Pieper, K. E., et K. A. Dyer. 2016. « Occasional Recombination of a Selfish X-Chromosome May

Bibliographie

- Permit Its Persistence at High Frequencies in the Wild ». *Journal of Evolutionary Biology* 29 (11): 2229-41. <https://doi.org/10.1111/jeb.12948>.
- Pieper, Kathleen E., Robert L. Unckless, et Kelly A. Dyer. 2018. « A Fast-evolving X-linked Duplicate of *Importin- α 2* Is Overexpressed in *Sex-ratio* Drive in *Drosophila Neotestacea* ». *Molecular Ecology*, décembre, mec.14928. <https://doi.org/10.1111/mec.14928>.
- Pimpinelli, S., et P. Dimitri. 1989. « Cytogenetic Analysis of Segregation Distortion in *Drosophila Melanogaster*: The Cytological Organization of the Responder (Rsp) Locus ». *Genetics* 121 (4): 765-72.
- Pinzone, Cheryl A., et Kelly A. Dyer. 2013. « Association of Polyandry and Sex-Ratio Drive Prevalence in Natural Populations of *Drosophila Neotestacea* ». *Proceedings. Biological Sciences* 280 (1769): 20131397. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1397>.
- Policansky, D., et J. Ellison. 1970. « "Sex Ratio" in *Drosophila Pseudoobscura*: Spermiogenic Failure ». *Science* 169 (3948): 888-89. <https://doi.org/10.1126/science.169.3948.888>.
- Presgraves, Daven. 2008. « Drive and sperm: The evolution and genetics of male meiotic drive ». In *Sperm Biology*, First Edit, 471-506. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372568-4.00012-4>.
- Presgraves, Daven C. 2007. « Does Genetic Conflict Drive Rapid Molecular Evolution of Nuclear Transport Genes In *Drosophila*? » *BioEssays* 29 (4): 386-91. <https://doi.org/10.1002/bies.20555>.
- . 2008. « Sex Chromosomes and Speciation in *Drosophila* ». *Trends in Genetics* 24 (7): 336-43. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2008.04.007>.
- Presgraves, Daven C., Pierre R. Gérard, Anjuli Cherukuri, et Terrence W. Lyttle. 2009. « Large-Scale Selective Sweep among Segregation Distorter Chromosomes in African Populations of *Drosophila Melanogaster* ». Édité par Harmit S. Malik. *PLoS Genetics* 5 (5): e1000463. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000463>.
- Presgraves, Daven C., et Wolfgang Stephan. 2007. « Pervasive Adaptive Evolution among Interactors of the *Drosophila* Hybrid Inviability Gene, Nup96 ». *Molecular Biology and Evolution* 24 (1): 306-14. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl157>.
- Price, Tom A. R., Amanda J. Bretman, Tomos D. Avent, Rhonda R. Snook, Gregory D. D. Hurst, et Nina Wedell. 2008. « Sex Ratio Distorter Reduces Sperm Competitive Ability in an Insect ». *Evolution* 62 (7): 1644-52. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00386.x>.
- Price, Tom A. R., Zenobia Lewis, Damian T. Smith, Gregory D. D. Hurst, et Nina Wedell. 2010. « Sex Ratio Drive Promotes Sexual Conflict and Sexual Coevolution in the Fly *Drosophila Pseudoobscura* ». *Evolution; International Journal of Organic Evolution* 64 (5): 1504-9. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00896.x>.
- Quimby, B. 2003. « The Small GTPase Ran: Interpreting the Signs ». *Current Opinion in Cell Biology* 15 (3): 338-44. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(03\)00046-2](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(03)00046-2).
- Rabenstein, M. D., S. Zhou, J. T. Lis, et R. Tjian. 1999. « TATA Box-Binding Protein (TBP)-Related Factor 2 (TRF2), a Third Member of the TBP Family ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96 (9): 4791-96.

Bibliographie

<https://doi.org/10.1073/pnas.96.9.4791>.

- Rhoades, M. M. 1942. « Preferential Segregation in Maize ». *Genetics* 27 (4): 395-407.
- Rice, William R. 2014. « An X-Linked Sex Ratio Distorter in *Drosophila Simulans* That Kills or Incapacitates Both Noncarrier Sperm and Sons ». *G3 (Bethesda, Md.)* 4 (10): 1837-48. <https://doi.org/10.1534/g3.114.013292>.
- Rohmer, C. 2004. « Heat Induced Male Sterility in *Drosophila Melanogaster*: Adaptive Genetic Variations among Geographic Populations and Role of the Y Chromosome ». *Journal of Experimental Biology* 207 (16): 2735-43. <https://doi.org/10.1242/jeb.01087>.
- Ross, Robert J., Molly M. Weiner, et Haifan Lin. 2014. « PIWI Proteins and PIWI-Interacting RNAs in the Soma ». *Nature* 505 (7483): 353-59. <https://doi.org/10.1038/nature12987>.
- Rowley, Paul A., Kurt Patterson, Suzanne B. Sandmeyer, et Sara L. Sawyer. 2018. « Control of Yeast Retrotransposons Mediated through Nucleoporin Evolution ». Édité par Cédric Feschotte. *PLOS Genetics* 14 (4): e1007325. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007325>.
- Sandler, L., et Y. Hiraizumi. 1959. « Meiotic Drive in Natural Population of *Drosophila Melanogaster* II. Genetic Variation at the Segregation-Distorter Locus ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 45 (9): 1412-22. <https://doi.org/10.1073/pnas.45.9.1412>.
- . 1960. « Meiotic Drive in Natural Populations of *Drosophila Melanogaster*. V. on the Nature of the Sd Region ». *Genetics* 45 (12): 1671-89.
- Sandler, L., et Yuichiro Hiraizumi. 1961. « Meiotic Drive in Natural Population of *Drosophila Melanogaster*. VIII. A Heritable Aging Effect on the Phenomenon of Segregation-Distortion ». *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 3 (1): 34-46. <https://doi.org/10.1139/g61-009>.
- Sandler, L., et E. Novitski. 1957. « Meiotic Drive as an Evolutionary Force ». *The American Naturalist* 91 (857): 105-10. <https://doi.org/10.1086/281969>.
- Schaub, Christoph, Hideyuki Nagaso, Hong Jin, et Manfred Frasch. 2012. « Org-1, the *Drosophila* Ortholog of Tbx1, Is a Direct Activator of Known Identity Genes during Muscle Specification ». *Development (Cambridge, England)* 139 (5): 1001-12. <https://doi.org/10.1242/dev.073890>.
- Schöfl, Gerhard, et Christian Schlötterer. 2006. « Microsatellite Variation and Differentiation in African and Non-African Populations of *Drosophila Simulans*: GENETIC DIFFERENTIATION IN *D. SIMULANS* ». *Molecular Ecology* 15 (13): 3895-3905. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.03065.x>.
- Semagn, Kassa, Raman Babu, Sarah Hearne, et Michael Olsen. 2014. « Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement ». *Molecular Breeding* 33 (1): 1-14. <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9917-x>.
- Sharp, C. B., A. J. Hilliker, et D. G. Holm. 1985. « Further Characterization of Genetic Elements Associated with the Segregation Distorter Phenomenon in *DROSOPHILA MELANOGASTER* ». *Genetics* 110 (4): 671-88.

Bibliographie

- Shin, Dongyoung, Akio Mori, et David W. Severson. 2012. « Genetic Mapping a Meiotic Driver That Causes Sex Ratio Distortion in the Mosquito *Aedes Aegypti* ». *Journal of Heredity* 103 (2): 303-7. <https://doi.org/10.1093/jhered/esr134>.
- Silver, Lee M. 1993. « The Peculiar Journey of a Selfish Chromosome: Mouse t Haplotypes and Meiotic Drive ». *Trends in Genetics* 9 (7): 250-54. [https://doi.org/10.1016/0168-9525\(93\)90090-5](https://doi.org/10.1016/0168-9525(93)90090-5).
- Skene, Peter J., et Steven Henikoff. 2017. « An Efficient Targeted Nuclease Strategy for High-Resolution Mapping of DNA Binding Sites ». *ELife* 6. <https://doi.org/10.7554/eLife.21856>.
- Skinner, Benjamin M., Carole A. Sargent, Carol Churcher, Toby Hunt, Javier Herrero, Jane E. Loveland, Matt Dunn, et al. 2016. « The Pig X and Y Chromosomes: Structure, Sequence, and Evolution ». *Genome Research* 26 (1): 130-39. <https://doi.org/10.1101/gr.188839.114>.
- Smith, John Maynard, et John Haigh. 1974. « The Hitch-Hiking Effect of a Favourable Gene ». *Genetical Research* 23 (1): 23-35. <https://doi.org/10.1017/S0016672300014634>.
- Solignac, Michel. 2004. « Mitochondrial DNA in the *Drosophila Melanogaster* Complex ». *Genetica* 120 (1-3): 41-50. <https://doi.org/10.1023/b:gene.0000017628.52056.97>.
- Solignac, Michel, et Monique Monnerot. 1986. « RACE FORMATION, SPECIATION, AND INTROGRESSION WITHIN *DROSOPHILA SIMULANS*, *D. MAURITIANA*, AND *D. SEHELLIA* INFERRED FROM MITOCHONDRIAL DNA ANALYSIS ». *Evolution; International Journal of Organic Evolution* 40 (3): 531-39. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1986.tb00505.x>.
- Stalker, H. D. 1961. « The Genetic Systems Modifying Meiotic Drive in *Drosophila Paramelanica* ». *Genetics* 46 (2): 177-202.
- Sturtevant, A. H., et T. Dobzhansky. 1936. « Geographical Distribution and Cytology of "Sex Ratio" in *Drosophila Pseudoobscura* and Related Species ». *Genetics* 21 (4): 473-90.
- Sutter, Andreas, et Anna K. Lindholm. 2016. « Meiotic Drive Changes Sperm Precedence Patterns in House Mice: Potential for Male Alternative Mating Tactics? ». *BMC Evolutionary Biology* 16 (1): 133. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0710-4>.
- Tang, S., et D. C. Presgraves. 2009. « Evolution of the *Drosophila* Nuclear Pore Complex Results in Multiple Hybrid Incompatibilities ». *Science* 323 (5915): 779-82. <https://doi.org/10.1126/science.1169123>.
- Tao, Y., D. L. Hartl, et C. C. Laurie. 2001. « Sex-Ratio Segregation Distortion Associated with Reproductive Isolation in *Drosophila* ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 (23): 13183-88. <https://doi.org/10.1073/pnas.231478798>.
- Tao, Yun, Luciana Araripe, Sarah B. Kingan, Yeyan Ke, Hailian Xiao, et Daniel L. Hartl. 2007b. « A sex-ratio Meiotic Drive System in *Drosophila simulans*. II: An X-linked Distorter ». *PLOS Biology* 5 (11): e293. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050293>.
- Tao, Yun, John P. Masly, Luciana Araripe, Yeyan Ke, et Daniel L. Hartl. 2007a. « A sex-ratio meiotic drive system in *Drosophila simulans*. I: An autosomal suppressor ». *PLoS Biology* 5 (11): 2560-75. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050292>.
- Temin, R. G. 1991. « The Independent Distorting Ability of the Enhancer of Segregation Distortion,

Bibliographie

- E(SD), in *Drosophila Melanogaster* ». *Genetics* 128 (2): 339-56.
- Tobler, Ray, Viola Nolte, et Christian Schlötterer. 2017. « High Rate of Translocation-Based Gene Birth on the *Drosophila* Y Chromosome ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114 (44): 11721-26. <https://doi.org/10.1073/pnas.1706502114>.
- Tokuyasu, K.T., W.J. Peacock, et R.W. Hardy. 1977. « Dynamics of Spermiogenesis in *Drosophila Melanogaster* ». *Journal of Ultrastructure Research* 58 (1): 96-107. [https://doi.org/10.1016/S0022-5320\(77\)80011-7](https://doi.org/10.1016/S0022-5320(77)80011-7).
- Trippa, G., et A. Loverre. 1975. « A Factor on a Wild Third Chromosome (III_{Ra}) That Modifies the Segregation Distortion Phenomenon in *Drosophila Melanogaster* ». *Genetical Research* 26 (2): 113-25. <https://doi.org/10.1017/S0016672300015925>.
- True, J. R., J. M. Mercer, et C. C. Laurie. 1996. « Differences in Crossover Frequency and Distribution among Three Sibling Species of *Drosophila* ». *Genetics* 142 (2): 507-23.
- Unckless, Robert L., Amanda M. Larracuenta, et Andrew G. Clark. 2015. « Sex-Ratio Meiotic Drive and Y-Linked Resistance in *Drosophila Affinis* ». *Genetics* 199 (3): 831-40. <https://doi.org/10.1534/genetics.114.173948>.
- Vaz, Suzana Casaccia, et Antonio Bernardo Carvalho. 2004. « Evolution of Autosomal Suppression of the Sex-Ratio Trait in *Drosophila* ». *Genetics* 166 (1): 265-77.
- Verspoor, Rudi L., Jack M. L. Smith, Natasha L. M. Mannion, Gregory D. D. Hurst, et Tom A. R. Price. 2018. « Strong Hybrid Male Incompatibilities Impede the Spread of a Selfish Chromosome between Populations of a Fly ». *Evolution Letters* 2 (3): 169-79. <https://doi.org/10.1002/evl3.55>.
- Voelker, Robert A., et Ken-ichi Kojima. 1972. « Fertility and Fitness of XO Males in *Drosophila* II. Quantitative Analysis ». *Evolution* 26 (4): 560-73. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1972.tb01964.x>.
- Volpe, A. M., H. Horowitz, C. M. Grafer, S. M. Jackson, et C. A. Berg. 2001. « *Drosophila* Rhino Encodes a Female-Specific Chromo-Domain Protein That Affects Chromosome Structure and Egg Polarity ». *Genetics* 159 (3): 1117-34.
- Wang, Meng, Alan T. Branco, et Bernardo Lemos. 2018. « The Y Chromosome Modulates Splicing and Sex-Biased Intron Retention Rates in *Drosophila* ». *Genetics* 208 (3): 1057-67. <https://doi.org/10.1534/genetics.117.300637>.
- Wang, R. L., J. Wakeley, et J. Hey. 1997. « Gene Flow and Natural Selection in the Origin of *Drosophila Pseudoobscura* and Close Relatives ». *Genetics* 147 (3): 1091-1106.
- Wedell, Nina. 2013. « The Dynamic Relationship between Polyandry and Selfish Genetic Elements ». *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 368 (1613): 20120049. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0049>.
- Wei, Kevin H -C, Sarah E Lower, Ian V Caldas, Trevor J S Sless, Daniel A Barbash, et Andrew G Clark. 2018. « Variable Rates of Simple Satellite Gains across the *Drosophila* Phylogeny ». *Molecular Biology and Evolution* 35 (4): 925-41. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy005>.
- Wei, Kevin H.-C., Jennifer K. Grenier, Daniel A. Barbash, et Andrew G. Clark. 2014. « Correlated Variation and Population Differentiation in Satellite DNA Abundance among Lines of

Bibliographie

- Drosophila Melanogaster* ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (52): 18793-98. <https://doi.org/10.1073/pnas.1421951112>.
- Wei, Kevin H.-C., Hemakumar M. Reddy, Chandramouli Rathnam, Jimin Lee, Deanna Lin, Shuqing Ji, James M. Mason, Andrew G. Clark, et Daniel A. Barbash. 2017. « A Pooled Sequencing Approach Identifies a Candidate Meiotic Driver in *Drosophila* ». *Genetics* 206 (1): 451-65. <https://doi.org/10.1534/genetics.116.197335>.
- Wente, S. R. 2000. « Gatekeepers of the Nucleus ». *Science* 288 (5470): 1374-77. <https://doi.org/10.1126/science.288.5470.1374>.
- Werren, John H., et Richard Stouthamer. 2003. « PSR (Paternal Sex Ratio) Chromosomes: The Ultimate Selfish Genetic Elements ». *Genetica* 117 (1): 85-101. <https://doi.org/10.1023/a:1022368700752>.
- Wilkinson, Gerald S., John G. Swallow, Sarah J. Christensen, et Kevin Madden. 2003. « Phylogeography of Sex Ratio and Multiple Mating in Stalk-Eyed Flies from Southeast Asia ». *Genetica* 117 (1): 37-46. <https://doi.org/10.1023/a:1022360531703>.
- Wilson, Edmund B. 1906. « Studies on Chromosomes. V. The Chromosomes of *Metapodius*. A Contribution to the Hypothesis of the Genetic Continuity of Chromosomes ». *Journal of Experimental Zoology* 6 (2): 147-205. <https://doi.org/10.1002/jez.1400060202>.
- Wu, C. I., et A. T. Beckenbach. 1983. « Evidence for Extensive Genetic Differentiation between the Sex-Ratio and the Standard Arrangement of *DROSOPHILA PSEUDOOBSCURA* and *D. PERSIMILIS* and Identification of Hybrid Sterility Factors ». *Genetics* 105 (1): 71-86.
- Wu, C, T.W Lyttle, M.L Wu, et G.F Lin. 1988. « Association between a Satellite DNA Sequence and the Responder of Segregation Distorter in *D. Melanogaster* ». *Cell* 54 (2): 179-89. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90550-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(88)90550-8).
- Wu, Thomas D, et Serban Nacu. 2010. « Fast and SNP-tolerant detection of complex variants and splicing in short reads ». *Bioinformatics* 26 (7): 873-81.
- Zanders, Sarah E., Michael T. Eickbush, Jonathan S. Yu, Ji-Won Kang, Kyle R. Fowler, Gerald R. Smith, et Harmit Singh Malik. 2014. « Genome Rearrangements and Pervasive Meiotic Drive Cause Hybrid Infertility in Fission Yeast ». *ELife* 3 (juin): e02630. <https://doi.org/10.7554/eLife.02630>.
- Zhang, Fan, Jie Wang, Jia Xu, Zhao Zhang, Birgit S. Koppetsch, Nadine Schultz, Thom Vreven, et al. 2012. « UAP56 Couples PiRNA Clusters to the Perinuclear Transposon Silencing Machinery ». *Cell* 151 (4): 871-84. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.09.040>.
- Zhang, Linbin, Tianai Sun, Fitsum Woldelessie, Hailian Xiao, et Yun Tao. 2015. « Sex Ratio Meiotic Drive as a Plausible Evolutionary Mechanism for Hybrid Male Sterility ». *PLoS Genetics* 11 (3): e1005073. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005073>.
- Zhang, P., B. Timakov, R. L. Stankiewicz, et I. Y. Turgut. 2000. « A Trans-Activator on the *Drosophila* Y Chromosome Regulates Gene Expression in the Male Germ Line ». *Genetica* 109 (1-2): 141-50. <https://doi.org/10.1023/a:1026504721067>.
- Zhang, Zhao, Jie Wang, Nadine Schultz, Fan Zhang, Swapnil S. Parhad, Shikui Tu, Thom Vreven, Phillip D. Zamore, Zhiping Weng, et William E. Theurkauf. 2014. « The HP1 Homolog

Bibliographie

Rhino Anchors a Nuclear Complex That Suppresses PiRNA Precursor Splicing ». *Cell* 157 (6): 1353-63. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.04.030>.

Zhou, J., T. B. Sackton, L. Martinsen, B. Lemos, T. H. Eickbush, et D. L. Hartl. 2012. « Y Chromosome Mediates Ribosomal DNA Silencing and Modulates the Chromatin State in *Drosophila* ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109 (25): 9941-46. <https://doi.org/10.1073/pnas.1207367109>.

Zuckerkindl, Emile. 1974. « A Possible Role of “Inert” Heterochromatin in Cell Differentiation. Action of and Competition for “Locking” Molecules ». *Biochimie* 56 (6-7): 937-54. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(74\)80516-X](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(74)80516-X).

Zurovcova, M., et W. F. Eanes. 1999. « Lack of Nucleotide Polymorphism in the Y-Linked Sperm Flagellar Dynein Gene *Dhc-Yh3* of *Drosophila Melanogaster* and *D. Simulans* ». *Genetics* 153 (4): 1709-15.

Titre : Bases génétiques et évolution du conflit génétique induit par la distorsion de ségrégation des chromosomes sexuels chez *Drosophila simulans*.

Mots clés : *Drosophila*, distorateur de ségrégation, chromosome sexuel, conflit génétique, hétérochromatine.

Résumé : La distorsion de ségrégation méiotique est une entorse à la loi de ségrégation équilibrée des allèles *via* les gamètes. Les gènes ou éléments génétiques causaux (distorateurs de ségrégation) empêchent, chez les hétérozygotes, la production de gamètes qui ne les contiennent pas. Ils peuvent ainsi se répandre dans les populations même s'ils sont délétères pour les individus porteurs.

Parce qu'ils induisent un biais du sexe ratio, les distorateurs liés au sexe et s'exprimant dans le sexe hétérogamétique sont générateurs de conflits intragénomiques, caractérisés par l'évolution de supresseurs qui tendent à rétablir l'équilibre des sexes. Ce processus peut conduire à l'émergence de nouvelles espèces, à l'évolution du comportement reproducteur ou du déterminisme du sexe.

Dans l'espèce *Drosophila simulans*, des distorateurs liés au chromosome X, perturbent la ségrégation du chromosome Y lors de la méiose mâle. La descendance des mâles porteurs est alors très majoritairement femelle. Un de ces éléments distorateurs, le gène *HP1D2*, code une protéine qui se lie au chromosome Y avant la méiose. La distorsion est le fait d'allèles dysfonctionnels de *HP1D2* (qui ont un faible niveau de transcrits testiculaires et/ou ont une délétion du domaine d'interaction protéine-protéine).

Dans les populations naturelles envahies par les distorateurs, ceux-ci se trouvent neutralisés par des supresseurs autosomaux et des chromosomes Y résistants.

Le premier volet de ma thèse a été consacré au déterminisme génétique de la suppression autosomale. Par cartographie de QTL, utilisant des lignées recombinantes consanguines, j'ai révélé la complexité de ce déterminisme : 5 QTLs avec de nombreuses relations d'épistasie.

Le deuxième volet est consacré au chromosome Y, qui présente, d'importantes variations phénotypiques pour la résistance aux distorateurs. Nous avons étudié ses variations moléculaires et structurales et la dynamique des Y résistants dans les populations naturelles. Le séquençage de différents chromosomes Y, résistants ou sensibles, a permis de retracer l'histoire évolutive du chromosome Y en relation avec celle des distorateurs.

Le dernier volet est une étude cytologique pour comparer le comportement des formes sauvages et distortrices de la protéine *HP1D2* dans les spermatogonies.

Dans l'ensemble ces travaux apportent un éclairage sur les bases génétiques et moléculaires du système Paris et sur son évolution.

Title : Genetic bases and evolution of the genetic conflict caused by sex chromosome segregation distortion in *Drosophila simulans*.

Keywords : *Drosophila*, meiotic drive, sex chromosome, genetic conflict, heterochromatin.

Abstract : Meiotic drive is an infringement of the law of allele segregation into the gametes. In heterozygote individuals, the causal genes or genetic elements (meiotic drivers), prevent the production of gamete which does not contain it. Thus, they can spread through populations even if they are deleterious for the carriers.

Because they induce sex-ratio bias, sex-linked drivers that are expressed in the heterogametic sex, are an important source of genetic conflict, characterized by the evolution of suppressor which tends to restore a balanced sex ratio. This process can lead to the emergence of new species, evolution of reproductive behavior or sex determination.

In *Drosophila simulans*, X-linked meiotic drivers disturb the segregation of the Y chromosome during male meiosis. The progeny of carrier male is mainly composed of females. One of the drivers is the *HP1D2* gene, which encodes a protein that binds to the heterochromatic Y chromosome. The distortion is due to dysfunctional alleles of *HP1D2* (low level of expression and/or a deletion of its protein-protein interaction domain).

In natural populations where the drivers have spread, they are neutralized by autosomal suppressors and resistant Y chromosomes. The first part of my thesis was focus on the genetic determinism of autosomal suppression. I performed a QTL mapping using recombinant inbred lines which highlighted the complexity of the genetic determinism of suppression: 5 QTLs and multiple epistatic interaction.

The second part is about the Y chromosome, which show important phenotypic variation in the resistance of Y chromosomes to the driver. We studied its molecular and structural variation and the dynamic of resistant Y chromosomes in natural population. The sequencing of different Y chromosomes, sensitive and resistant, allowed us to retrace the evolutionary history of the Y chromosome related to the one of the driver.

The last part is a cytological study to compare the localization of the functional and the driver form of *HP1D2* in spermatogonia.

Generally, results presented here give a better insight regarding the genetic bases and the evolution of the multiple actors of the Paris sex ratio system.